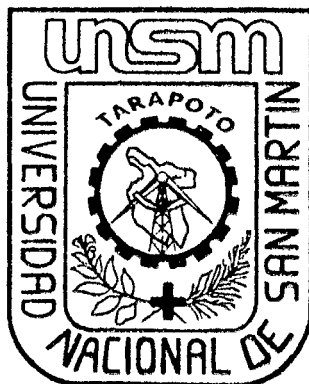


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICO - PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“CONTROL BIOLÓGICO DE *Alternaria brassicicola* EN
Brassica oleracea VAR. Capitata, CON CEPAS NATIVAS
DE *Trichoderma* spp EN LAMAS - PERÚ”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

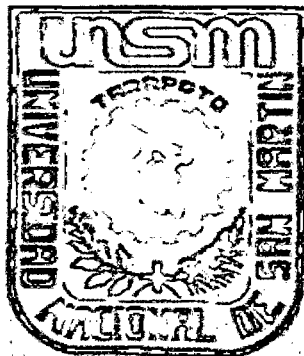
PRESENTADO POR EL BACHILLER:

FRANCO MARTÍN PAREDES TUESTA

TARAPOTO - PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“CONTROL BIOLÓGICO DE *Alternaria brassicicola* EN
Brassica oleracea VAR. Capitata, CON CEPAS NATIVAS DE
Trichoderma spp EN LAMAS - PERÚ”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR EL BACHILLER:
FRANCO MARTÍN PAREDES TUESTA

TARAPOTO - PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN – TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TESIS

**“CONTROL BIOLÓGICO DE *Alternaria brassicicola* EN
Brassica oleracea VAR. Capitata, CON CEPAS NATIVAS DE
Trichoderma spp EN LAMAS - PERÚ”**

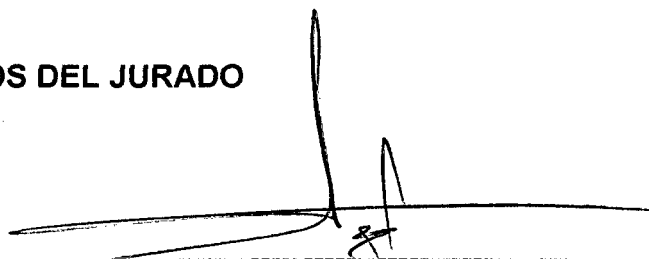
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR EL BACHILLER:
FRANCO MARTÍN PAREDES TUESTA

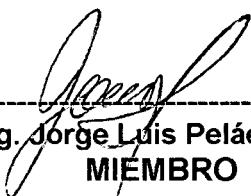
MIEMBROS DEL JURADO



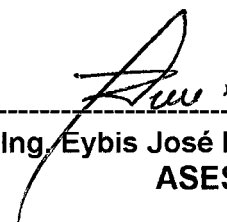
Blgo. M. Sc. Dr. Winston Franz Ríos-Ruiz
PRESIDENTE



Dr. Agustín Cerna Mendoza
SECRETARIO



Ing. Jorge Luis Peláez Rivera
MIEMBRO



Ing. Eybis José Flores García
ASESOR

TARAPOTO – PERÚ
2014

DEDICATORIA

“A Dios por darme la fortaleza para afrontar las dificultades y por brindarme la fe para cuidar mi salud y poder seguir viviendo”.

“A mis padres Jorge y Norma Isabel por el apoyo incondicional que me han brindado para poder cumplir mis metas.”

“A mi hermano Jorge Luis, a mis primos Víctor, Jimmy y Eduardo que me apoyaron durante mi vida universitaria”.

“A mis queridos abuelos Tulio Tuesta y Adith Arévalo, a mis tíos Tulio Armando, Luis Alberto, Rosario y Zoila que siempre estaban pendiente de mi progreso como persona y estudiante universitario”.

AGRADECIMIENTO

- Al ingeniero Eybis José Flores García por el apoyo como asesor de Tesis y Docente de la Universidad Nacional de San Martín, que me brindó su tiempo y dedicación en mi trabajo.
- Al señor Fernando Pinedo Pinedo que me brindó su tiempo y dedicación apoyándome en el desarrollo de la tesis en campo.
- A todos los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía por haberme brindado los conocimientos científicos para formarme como profesional en Ciencias Agrarias.
- A mis compañeros de la promoción de 2007 – I, por compartir momentos de estudio, buenos recuerdos y por la competencia académica que existía.
- A mis queridos padres por el apoyo emocional, económico que me siguen brindando y por los valores que me formaron como persona.

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
I. INTRODUCCIÓN	01
II. OBJETIVOS	02
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	03
3.1. Descripción del cultivo	03
3.1.1. Importancia	03
3.1.2. Origen	03
3.1.3. Taxonomía del cultivo	04
3.1.4. Fenología del cultivo	04
3.2. Descripción botánica	05
3.3. La Alternaria	07
3.4. Control biológico	09
3.5. Descripción del Trichoderma	10
3.6. Taxonomía del Trichoderma	11
3.7. Mecanismo de acción de Trichoderma	11
3.8. Micoparasitismo	13
3.9. Crecimiento quimiotrófico	13
3.10. Reconocimiento	14
3.11. Adhesión y enrollamiento	14
3.12. Actividad lítica	15
3.13. Antibiosis	15
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	17
4.1. Ubicación de la Investigación	17
4.2. Condiciones climáticas	17
4.3. Historia del campo experimental	18

4.4. Muestreo y análisis del suelo	19
4.5. Aislamiento y multiplicación de cepas o morfotipos de <i>Trichoderma</i>	19
4.6. Identificación de hongos fitopatógenos	20
4.7. Conducción del experimento de campo	21
4.7.1. Sustrato utilizado y siembra en vivero	21
4.7.2. Preparación del campo experimental	21
4.7.3. Trazado del campo experimental	22
4.7.4. Trasplante	23
4.7.5. Control fitosanitario	23
4.7.6. Riego	24
4.7.7. Control de malezas	24
4.7.8. Aporque	24
4.7.9. Control de plagas	25
4.7.10. Cosecha	25
4.8. Diseño experimental y tratamientos	25
4.9. Variables dependientes	26
4.9.1. Descripción de las características de las cepas (morfotipos) de <i>Trichoderma</i> sp.	26
4.9.2. Identificación del hongo fitopatógeno	26
4.9.3. Incidencia	27
4.9.4. Severidad	27
4.9.5. Longitud de las cabezas de repollo a la cosecha en centímetros	28
4.9.6. Circunferencia de la cabeza de repollo corazón de buey a la cosecha en centímetros	28
4.9.7. Peso de hojas verdaderas en gramos a la cosecha	28
4.9.8. Peso de la cabeza de repollo corazón de buey en gramos a la cosecha	28

4.9.9. Análisis económico	28
V. RESULTADOS	29
5.1. Descripción de las características de las cepas (morfotipos) de <i>Trichoderma</i> sp	29
5.2. Identificación del hongo	31
5.3. Incidencia de <i>Alternaria brassicicola</i> en las hojas verdaderas de la col corazón de buey a la cosecha	33
5.4. Severidad de la enfermedad mancha negra del repollo expresado en área foliar afectada	34
5.5. Longitud de las cabezas de la col a la cosecha en centímetros	36
5.6. Circunferencia de cabeza de col corazón de buey a la cosecha en centímetros	37
5.7. Peso de hojas verdaderas en gramos a la cosecha	38
5.8. Peso de cabeza de la col corazón de buey en gramos a la cosecha	39
5.9. Análisis Económico	40
VI. DISCUSIONES	41
VII. CONCLUSIONES	51
VIII. RECOMENDACIONES	52
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
X. RESUMEN	
XI. SUMMARY	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1: Datos meteorológicos correspondientes a los meses del experimento	17
Tabla 2: Tratamientos, Aleatorización y descripción de las muestras	25
Tabla 3: Escala de Horsfall-Barratt para evaluación de los valores de porcentuales de las enfermedades y la fórmula para convertir los valores de clase de valores porcentuales para el análisis de promedio y los datos	27
Tabla 4: Descripción de las características morfológicas de los Trichodermas observados en el microscopio compuesto	30
Tabla 5: ANVA para la incidencia de <i>Alternaria brassicicola</i> en las hojas verdaderas de la col corazón de buey a la cosecha	33
Tabla 6: ANVA para el porcentaje de área foliar afectada de la col corazón de buey al momento de la cosecha	34
Tabla 7: Severidad del daño ocasionado por <i>Alternaria brassicicola</i> en la hoja de la col	35
Tabla 8: ANVA para la longitud de las cabezas de la col a la cosecha en centímetros	36
Tabla 9: ANVA para circunferencia de cabezas de col corazón de buey a la cosecha en centímetros	37
Tabla 10: ANVA para el peso de las hojas verdaderas en gramos a la cosecha	38
Tabla 11: ANVA para el peso de cabeza de la col corazón de buey en gramos a la cosecha	39
Tabla 12: Análisis económico para la producción del cultivo de la col corazón de buey	40

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1: Prueba de Duncan para la incidencia de <i>Alternaria brassicicola</i> en las hojas verdaderas de la col corazón de buey a la cosecha	33
Gráfico 2: Prueba de Duncan para el porcentaje de área foliar afectada de la col corazón de buey al momento de la cosecha	34
Gráfico 3: Prueba de Duncan para la longitud de cabeza de la col corazón de buey a la cosecha en centímetros	36
Gráfico 4: Prueba de Duncan para circunferencia de cabezas de col corazón de buey a la cosecha en centímetros	37
Gráfico 5: Prueba de Duncan para el peso de las hojas verdaderas en gramos a la cosecha	38
Gráfico 6: Prueba de Duncan para el peso de cabeza de la col Corazón de buey en gramos a la cosecha	39

ÍNDICE DE FOTOS

	Páginas
FIGURA 1: Formación y características de las colonias a simple vista de los Trichodermas aislados, a.- vista posterior y b.- vista inferior. Fotos de F. M. Paredes	29
FIGURA 2: Características morfológicas observadas en el microscopio compuesto de las cepas de Trichoderma. Circulo: Clamidosporas. Cuadrado: Esporas Triángulo: conidióforos. Fotos E. J. Flores	29
FIGURA 3: A, B y D) planta sana, C) Síntoma pre-necróticos: halo amarillo y síntomas necróticos mancha con anillos concéntricos de color marrón a marrón oscuro, donde observó las estructuras diminutas a simple vista y con ayuda del microscopio estereoscopio se vieron las conidias pegadas al conidióforo	31
FIGURA 4: A) Micelio en cámara húmeda, B) Hifas y micelio con fialides en mp, C) Conidias muriformes con septa transversales, oblicuas y horizontales. D) Conidios en cadenas, y E) Colonias en PDA.	32

I. INTRODUCCIÓN

La horticultura en el Perú, tiene destacado desarrollo y crecimiento en la economía nacional con excelentes perspectivas para la exportación, y en la región San Martín genera recursos económicos relevantes. Sin embargo, para lograr producciones en cantidad y calidad los productores optan por tecnologías de manejo de enfermedades basados en el principio de la protección y erradicación aplicando métodos químicos, que afectan al medio ambiente y deterioran la salud de las personas.

El repollo o col que pertenece a la especie *Brassica oleracea*, se consume cruda, en ensaladas puras o en mezcla con las zanahorias, tomates, cebollas; su valor nutritivo aporta vitaminas, fibras y minerales. Su mayor consumo se da en las zonas urbanas y en las zonas rurales es insignificante. La producción se ve afectada por insectos plaga como los pulgones, cortadores de hoja y otros. En cuanto a las enfermedades fungosas, las principales como la mancha negra, marchitez vascular, pudrición seca de cuello de raíz y Antracnosis son causados por los hongos *Alternaria brassicicola*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* y *Colletotrichum* sp.

En el Fundo Aucaloma de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, a nivel de campo experimental el año 2011 y a inicio del año 2012, se ha presentado la mancha negra, que disminuyó considerablemente el rendimiento y calidad de la cabeza. Con el objetivo de obtener el control biológico, se aislaron cepas nativas del hongo *Trichoderma* spp, de la zona del Bajo Mayo; luego de experimentar en campo con plantaciones de col se obtuvo resultados favorables para la producción.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Controlar biológicamente la enfermedad de la mancha negra en *Brassica oleracea* var. *Capitata* cv corazón de buey con cepas nativas de *Trichoderma* spp.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1.** Aislar y multiplicar a nivel de laboratorio cepas nativas del hongo *Trichoderma* spp, de diferentes suelos del Bajo Mayo.
- 2.2.2.** Evaluar el efecto de cepas nativas del hongo *Trichoderma* spp en el crecimiento y rendimiento del cultivo *Brassica oleracea* var. *Capitata* cv corazón.
- 2.2.3.** Evaluar la incidencia y la severidad después de la aplicación del hongo *Trichoderma* spp al hongo *Alternaria brassicicola* agente causante de la mancha negra de la col.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Descripción del cultivo

3.1.1. Importancia

El repollo o la col se cultivan para el aprovechamiento de las hojas que conforman la cabeza, que pueden consumirse en estado físico fresco, cocidas de diversas formas y encurtidas, tiene alto contenido de vitamina C, hierro, el contenido de glucosinatos ha probado ser efectivo contra el cáncer, principalmente el pulmonar, se le atribuye efectos en la reducción del colesterol sanguíneo; cien gramos de repollo o la col contienen 2,2 gramos de proteínas, 4,1 de carbohidratos, 1,5 de fibras, 4,9 miligramos de calcio, 130 unidades internacionales de vitamina A y 47 miligramos de vitamina C, por lo tanto estas cualidades lo hacen un producto recomendable para su incorporación en la dieta familiar (Fuentes, 2003).

3.1.2. Origen

El repollo común se originó en las regiones mediterráneas y litorales de Europa Occidental, de una planta denominada berza silvestre, miles de años antes de la Era Cristiana (Fundación de Desarrollo Agropecuario – FDA, 1993). Las plantas originarias todavía crecen en forma silvestre a lo largo de las costas del Mediterráneo, en las costas marítimas de Gran Bretaña y del sudoeste de Europa; y por selección o mutación, las distintas formas de la especie que se cultivan actualmente (www.uc.cl/sw_educ/hort0498/HTML/p024.html).

3.1.3. Taxonomía del cultivo

El repollo se clasifica (Fuentes, 2003) de la siguiente forma:

División: Magnoliophyta

Clase : Dicotiledóneas

Orden: Brassicales

Familia: Brassicaceae

Género: *Brassica*

Especie: *Brassica oleracea* Var. *Capitata*

Variedad: Corazón de buey

3.1.4. Fenología del cultivo

El primer ciclo de la vida del repollo o fase de crecimiento vegetativa, es el más importante para los productores y el único que se cumple de forma natural en nuestras condiciones climáticas y esta fase se divide en cuatro etapas útiles para planificar prácticas de manejo del cultivo (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza - CATIE, 1990).

- a. **La fase vegetativa I**, se realiza entre los ocho y diez días con la germinación de la semilla, terminando cuando la plántula tiene entre cuatro a cinco hojas verdaderas, buen desarrollo del sistema radical y las primeras hojas verdaderas, que corresponde al momento apropiado para el trasplante (CATIE, 1990).
- b. **La fase vegetativa II**, inicia desde el establecimiento de la planta después del trasplante, recuperado del estrés, las plantas entran en una fase de rápido aumento de biomasa y el área foliar se incrementa rápidamente al

igual que el sistema radical y el tallo de la planta hasta que tenga de seis a ocho hojas (CATIE, 1990).

- c. **La fase vegetativa III o performance de la cabeza**, la planta continúa produciendo hojas de peciolo largo y limbo extendido, finaliza cuando la planta tiene aproximadamente doce hojas. La mayoría de las hojas originadas hasta ese momento no formarán parte de la cabeza, solo algunas de las producidas durante la última etapa se doblarán ligeramente para formar capa protectora (CATIE, 1990).
- d. **La fase vegetativa IV**, se caracteriza por la producción de hojas sin peciolo, que se superponen, estas crecen rápidamente, permitiendo el desarrollo de más hojas suculentas hasta alcanzar el tamaño propicio de cada cultivar y al final de esta etapa, las hojas han formado una bola o cabeza compacta que al tacto se siente firme y dura, en algunos casos, las hojas interiores pueden producir mucha presión sobre las externas, provocando rajaduras en la cabeza (CATIE, 1990). El ciclo fenológico dura de 92 a 95 días desde el almácigo (28 días) hasta la maduración (Giaconi, 2004).

3.2. Descripción botánica

Las coles son plantas bienales, que requieren de un período de vernalización para florecer, se cultivan como bienales o como anuales dependiendo de la finalidad de su utilización, son de arraigamiento superficial, con raíz pivotante que alcanza hasta 80 cm de profundidad, algunas pueden llegar hasta 1,50 m, y lateralmente alcanzan hasta 1,05 m, pero cuya masa radical más importante se concentra en los primeros 40 cm a 60 cm del perfil del suelo

(www.uc.cl/sw_educ/hort0498/HTML/p024.html), posee gran cantidad de ramificaciones radicales muy finas, con muchos pelos absorbentes, particularmente en las ramificaciones más jóvenes, lo que favorece su capacidad de absorción; también puede formar raíces adventicias, lo que favorece su recuperación durante el trasplante y la posibilidad de la reproducción agámica, aunque económicamente es más práctica la multiplicación por semillas (FDA, 1993).

Presentan tallo erecto, con fuerte crecimiento primario en grosor, que se asocia a severo freno al crecimiento en longitud, en el crecimiento secundario en grosor, se forma un anillo de xilema alrededor de la médula, por lo que la parte baja del tallo se mantiene relativamente delgada; las hojas de esta especie son grandes, glabras y presentan nervadura muy notoria, la superficie foliar está recubierta de ceras epicuticulares que dificultan el mojado, causando el escurrimiento del agua, y otorgan el color verde azulado opaco común en la especie (www.uc.cl/sw_educ/hort0498/HTML/p024.html).

La planta produce centenas de flores en racimos, con corola amarillenta de pétalos ovalados, mide 1 cm, aproximadamente cuando se encuentran abiertas y son de naturaleza hermafrodita pero de polinización cruzada, realizándose a través del viento e insectos; el fruto es silicua alargada, terminada en un cuernecillo cilíndrico, con numerosas semillas y dehiscente cuando es seco; las semillas son pequeñas, redondas y de color café, pardo rojizo o negro (Fuentes, 2003).

3.3. La alternaria

Las alternarias, se caracterizan por afectar plántulas, hojas, tallos, hasta las flores y frutos de varias hortalizas tales como solanaceae, apiaceae, aliaceae, cruciferae, curcubitaceae y chichoriaceae; en función del cultivo que afecta pueden presentar diferentes nomenclaturas como “mancha negra” para tomate, camote y pimiento; “mancha de alternaria” para crucíferas, chichoriáceas y cucurbitáceas en general; “mancha púrpura” para aliáceas y quema de las hojas para zanahoria (Domínguez y Töfoli, 2010).

El hongo *Alternaria*, tiene baja capacidad o la misma ausencia de esporulación en medio de cultivo, varios trabajos de investigación indican diferentes métodos para inducir esporulación como las variaciones luz utilizada, medios de cultivo, fermentos del micelio, temperaturas y edad de las colonias; sobreviven en medios de cultivos, o en restos de cultivo infectados, y hospedantes intermediarios, equipamientos agrícolas, estacas y cajas usadas o en las mismas semillas y mediante estas formas de sobrevivencia, existe la posibilidad del patógeno en permanecer viable no solo en la forma de micelio, esporos o clamidosporas; los conidios, son altamente resistentes a bajos niveles de humedad, pudiendo permanecer viables hasta un año en estas condiciones (Domínguez y Töfoli, 2010).

Alternaria brassicicola, es un hongo fitopatógeno en todas partes, pero también existe como saprofita; causa la enfermedad de punto negro en prácticamente todas las especies importantes cultivadas de *Brassica* como el brócoli, la col, la colza y mostaza (Domínguez y Töfoli, 2010). En brócoli que

es pariente de la col, porque los dos pertenecen a la especie *Brassica oleracea*. En Guantánamo México, se aislaron y con prueba de técnicas moleculares de PCR y secuenciación se determinó que *Alternaria brassicicola*, *Alternaria alternata* y *Alternaria longipes* son los agentes causales de la mancha negra que permitieron estudiar microorganismos capaces de inhibir el crecimiento del patógeno enfrentando bacterias mediante el método dual (Olalde, 2009).

Alternaria brassicicola, sin embargo, no se limita a la infección de las hojas, puede infectar a todas las partes de la planta incluyendo vainas, semillas y tallos, es un hongo necrotrófico (causa la muerte) de particular importancia como enfermedad post-cosecha y al igual que otras especies de *Alternaria* se ha demostrado que secretan numerosos metabolitos secundarios tóxicos y las proteínas que causan la muerte celular a través de la inducción de la apoptosis en las células de plantas o dañan directamente (Domínguez y Tófoli, 2010).

Alternaria brassicicola rutinariamente ha sido utilizado como un patógeno necrotrófico modelo de hongos en los estudios con *Arabidopsis thaliana*, también miembro de malezas de la familia de las brassicáceas y desde la perspectiva de la salud humana, *Alternaria brassicicola* es representante de un género de hongos que se considera una de las fuentes más potentes de origen alérgenos (www.genomeportal.jgi-psf.org/.../Altbr1.home.html).

La mancha negra causada por el hongo *Alternaria brassicicola* en col corazón de buey fue registrada en el fundo Aucaloma de la Universidad Nacional de San Martín el año 2011 (Rojas y Flores 2012), con 21,41% – 40,90% de incidencia y 4,33% – 33,75% de severidad, según la escala de evaluación está entre grado 2 a grado 5 (Sandoval y Flores, 2012), observándose que cuando existe mayor presencia de nitrógeno se incrementa la incidencia y la severidad; También fue reportada en Brócoli el año 2011 (Silva y Peláez, 2013).

3.4. Control biológico

Las alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas cultivadas que sean ambientalmente sano y racional se podrá lograr primero aceptando que nuestro objetivo principal no debe de ser el de eliminar al patógeno responsable de la enfermedad, sino más bien que a pesar de su presencia logremos obtener rendimientos económicamente redituables para el agricultor; y en segundo, entendiendo más de cerca la naturaleza de la enfermedad y la fisiología de la planta. Para el control biológico existen plantas antagonistas, microorganismos antagonistas, fitomiñeraloterapia, cubiertas epidermales, solarización, biofumigación y acolchados; entonces las opciones de manejos de enfermedades de las plantas diferente al control químico son múltiples, variadas y factibles de utilizar desde el punto de vista práctico (Zavaleta - Mejía, 2000). La aplicación de humus también es una forma de incorporar microorganismos supresores al suelo que reducen las poblaciones de hongos, bacterias y nemátodos (Vidal y Flores, 2006), pero su inconveniente es el traslado de semillas de malezas a campos nuevos.

3.5. Descripción del *Trichoderma*

Este hongo fue descrito por primera vez hace 200 años por los micólogos como gasteromicetes, un siglo después se realizó el análisis de su estructura y características para ser clasificado como género entre los hongos filamentosos, con propiedades y actividades biológicas cada vez más usadas en la agricultura actual, su habilidad como antagonista solo fue descubierta hace 50 años y gran cantidad de artículos técnicos se han escrito describiendo sus bondades en el manejo biológico de los cultivos agrícolas (Villegas, 2008).

El género *Trichoderma* está en el ambiente y especialmente en el suelo y se ha utilizado en aplicaciones comerciales para la producción de enzimas y para la regulación de los fitopatógenos que enferman las plantas, y se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica y por su relación con ella está clasificado en el grupo de hongos hipógeos, lignolícolas y depredadores (Villegas, 2008).

Un factor que puede afectar la densidad de la población en el suelo, es la época del año cuando se colecta la muestra; se han aislado poblaciones altas durante primavera – verano, comparado con otoño – invierno en zonas templado de suelos forestales, pero existen controversias con algunos estudios realizados, asimismo en un estudio obtuvieron 20 aislados y se identificaron tres especies: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* y *Trichoderma koningii*, de las cuales 10 aislados se seleccionaron por su capacidad antagónica contra ambos fitopatógenos

(Michel-Aceves, Otero-Sánchez, Martínez-Rogero, Ariza-Flores, Barrios-Ayala y Rebolledo-Martínez, 2008).

En estudios realizados en el Instituto de Cultivos Tropicales en San Martín Perú sobre *Trichoderma* encontraron 4 morfotipos denominados A1, A2, A3, A4 en base de su crecimiento de la colonia, color, textura, masas de esporas apicales y sus estructuras; asimismo se observó que el aislamiento T-E-17, resultó ser un potencial biocontrolador *in vitro*, logró inhibir (100%) el crecimiento del micelio de *Moniliophthora perniciosa*, seguido del aislamiento Bo-E-107 que inhibió el 45,2% (Rodríguez, Flores, León, Arévalo, Alvarado, Ríos y Ruiz, 2011). La mayoría de estudios son realizados a nivel de laboratorios y no a nivel de campo.

3.6. Taxonomía del *Trichoderma*

El *Trichoderma* se encuentra clasificado de la siguiente manera (Villegas, 2008): Reino Fungi; División Ascomycota; Subdivisión Eumycota; Clase Hyphomycetes; Orden Moniliales; Familia Moniliaceae y Género *Trichoderma*.

3.7. Mecanismo de acción de *Trichoderma*

En la acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos y entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes; el micoparasitismo y la antibiosis, son los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno, ya que estos mecanismos se ven favorecidos por la

habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizósfera de las plantas (Lorenzo, 2001).

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta y se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas; además tienen la capacidad, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Lorenzo, 2001).

Los aislamientos de *Trichoderma* tienen gran capacidad de colonizar a plantas de cacao de 16 días de edad en dos métodos de inoculación: el método de inoculación de semillas obtuvo mayor colonización a comparación del método de infestación del suelo, generando mayor tasa de crecimiento tanto en número de hojas y peso seco. Mientras en altura de planta y longitud de raíz fue con el método dos. Las plantas de cacao al someter al estrés hídrico entre 6 y 9 días observaron que los inoculados mediante semilla presentaron menor grado de marchites mayor peso seco en la parte aérea de la planta y raíz; en cuanto a la inoculación por el suelo se obtuvieron mayor porcentaje de agua en la raíz, esto nos demuestra que este hongo tiene capacidad de inducir resistencia al estrés hídrico del cacao (Trigozo y Flores, 2012). Asimismo las

plantas sometidas entre 6 y 9 días, las cepas de *Trichoderma* amenoran el grado de estrés de las plantas.

3.8. Micoparasitismo

Definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Pérez, 2004). Las especies de *Trichoderma* durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente, penetrando en ocasiones, y la degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno.

El micoparasitismo como mecanismo de acción antagónica en *Trichoderma* spp. ha sido ampliamente estudiado; no obstante, existen aspectos que no están totalmente esclarecidos ya que es un proceso complejo que para su estudio, se ha separado en cuatro etapas y el desarrollo de cada etapa depende de los hongos involucrados, de la acción biotrófica o necrotrófica del antagonista y de las condiciones ambientales (Pérez, 2004).

3.9. Crecimiento quimiotrófico

El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico y en la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que

Trichoderma puede detectarlo a distancia y sus hifas crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico (Chet y Benhamou, 1988).

3.10. Reconocimiento

Las investigaciones realizadas a lo largo de muchos años con un número considerable de cepas de *Trichoderma* y de especies de hongos fitopatógenos han demostrado que estas son efectivas sólo contra patógenos específicos (Chet y Benhamou, 1988). El conocimiento de esta especificidad condujo a la idea de que el reconocimiento molecular entre *Trichoderma* y el hospedante es el evento esencial que precede al proceso antagonista.

El reconocimiento se realiza a través de interacciones lecitinas, carbohidratos. Las lecitinas son proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas, las cuales aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular. La producción de lecitinas se ha investigado en *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*; en todos los casos se encontraron evidencias directas, de que las lecitinas están involucradas en el micoparasitismo (Pérez, 2004).

3.11. Adhesión y enrollamiento

Las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios, se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos; la adherencia ocurre gracias a la asociación de un azúcar de la pared del

antagonista con una lecitina presente en la pared del patógeno (Martínez *et al.* 2008).

3.12. Actividad lítica

En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista y por los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios, penetra la hifa del micoparásito en las del hongo hospedante (Chet y Benhamou, 1988). Los mismos autores mencionan que la actividad enzimática en *Trichoderma* ha sido estudiada extensamente, así como las posibles funciones que desenvuelven en el micoparasitismo y las especies de *Trichoderma* tienen un elevado potencial parasítico, con una actividad metabólica muy particular, que les permite parasitar eficientemente las estructuras fúngicas de los hongos.

El micoparasitismo finalmente termina con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula del hospedante y el citoplasma restante está principalmente rodeando las hifas invasoras, mostrando síntomas de disgregación, lo que disminuye la actividad patogénica del mismo (Díaz, 1994).

3.13. Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos, algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción

de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (Dennis y Webster, 1971).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación de la investigación

Los aislamientos y multiplicación de los controladores biológicos, se realizaron en el laboratorio de Sanidad Vegetal – Fitopatología de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, ubicado en la ciudad universitaria en el distrito de Morales, y el experimento de campo en el Fundo Acaloma a 15 km del distrito de Morales, Latitud Sur 6° 20', Longitud Oeste 76° 21', altitud 720 m.s.n.m.m., zona de vida bosque húmedo tropical (bh-PT) dentro de la jurisdicción del distrito de San Antonio del Rio Cumbaza, provincia y región de San Martín.

4.2. Condiciones climáticas

El experimento se ejecutó entre Noviembre del 2012 a Febrero del 2013; durante este periodo las condiciones climáticas referidas a temperatura y precipitaciones fueron proporcionadas por el SENAMHI, oficina de Tarapoto, las cuales se indican en la Tabla 1:

Tabla1: Datos meteorológicos correspondientes a los meses del experimento.

MESES	TEMPERATURA MAXIMA °C	TEMPERATURA MINIMA °C	TEMPERATURA MEDIA °C	PRECIPITACION TOTAL mm	HUMEDAD RELATIVA %
NOVIEMBRE	33,1	20,7	26,90	120,2	81
DICIEMBRE	32,2	20,3	26,25	254,2	81
ENERO	32,3	19,9	26,10	222,5	82
FEBRERO	31,9	20,0	25,95	168,9	82

Fuente: Estación San Antonio de Cumbaza SENAMHI – San Martín, 2012 y 2013.

4.3. Historia del campo experimental

El ensayo experimental se realizó en el fundo Aucaloma de la UNSM – T, con código catastral 30264, que tiene 31,12 hectáreas. Años anteriores al 2008, se desarrollaron varios ensayos de investigación como el manejo de suelos ácidos, mediante la fertilización natural y adaptaciones de nuevos cultivos entre otros y a partir del año 2008, se ejecutaron instalaciones agroforestales con especies forestales nativas y exóticas, cultivos tolerantes a suelos ácidos como la piña (*Ananas comosus*), marañón o casho (*Anacardium orientale*).

El 2009 se inicia con trabajos de investigación en cultivos anuales como el *Zea mayz*, *Lycopersicum sculentum*, *Brassica oleracea var capitata*, *Allium fistulosum*, *Allium cepa*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum annuum*, *Capsicum chinensis*, *Citrullus lanatus*, *Phaseolus vulgaris* (Allpa, Huasca poroto huallaguino, paca paleta, Red Kigney, ahuisho), *Vigna unguiculata* (black eye), *Cyclanthera pedata* (caihuas), *Arachis hypogea* (Blanco Tarapoto y el, angelito). Se observaron enfermedades como la antracnosis (*Colletotrichum capsici*, y *C. dematium*) alternariosis (*Alternaria alternata*) y mosaico del ají, mancha de asfalto (*Phyllachora maydis*), roya común (*Puccinea polysora*) y mancha Sud Americana del maíz (*Helminthosporium turiscicum*), chupadera fungosa (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *Pythium* sp.) pudrición seca (*Rhizoctonia solani*), marchitez (*Fusarium oxysporum*), nemátodos de nódulo (*Meloidogyne incognita*), mancha gris del tomate (*Stemphylium solani*) y mancha negra de la hoja en repollo (*Alternaria brassicicola*) que fue epidemia muy destructiva para el cultivo.

4.4. Muestreo y análisis del suelo

Antes de la preparación del área experimental, muestreamos el suelo a profundidad de 20 cm, extrajimos 6 sub muestras al azar, homogenizamos y se obtuvo una muestra representativa, que fue etiquetada y luego fueron enviados al laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de san Martín – Tarapoto, para el respectivo análisis.

4.5. Aislamiento y multiplicación de cepas o morfotipos de *Trichoderma*

Colectamos, embolsamos y etiquetamos muestras de suelo de 0 a 15 cm de profundidad, de los distritos de Juan Guerra (Boca del Mayo, INIA, Puente Colombia, Shatuyacu, Pacaya), Banda de Shilcayo (Supayrrarca, Las Palmas), Tarapoto, Morales (Cumbacillo), Cacatachi (entrada Lamas, Maronilla) y San Antonio de Cumbaza (Angashloma, Bijao 1, Bijao 2, y Fundo Aucaloma); estas muestras fueron trasladadas al laboratorio de Sanidad Vegetal –Fitopatología de la UNSM-T.

Siguiendo la metodología de aislamiento de microorganismos de suelos descrita por Cronmwealth Micology Institute, 1992, y con la ayuda del ingeniero Eybis José Flores García, especialista en Fitopatología se procedió a instalar las trampas de carnada que consistió en colocar 300 g de suelo, mostrando humedad a capacidad de campo en táper con tapa de 17 cm de diámetro x 7 cm de altura y capacidad 1 kg, previamente lavado, desinfestado con Hipoclorito de sodio al 2 % y alcohol a 96 %. En la parte superficial del suelo se esparció 5 g de arroz cocido y esterilizado a calor húmedo por 20 minutos a 121°C y 15 lb de presión. Se incubaron a temperatura ambiental

(entre 20°C a 32°C). Las trampas se evaluaron cada 48 horas hasta 10 días. Los granos de arroz que mostraban colonias de color amarillentas, verde, verde petróleo que es la característica de los *Trichodermas*. Se examinaron en forma simple al microscopio y aquellos que tenían las conidias y conidióforos de *Trichodermas* fueron trasladados por el método de estilete en medio de cultivo papa dextrosa agar al 1% glucosado con 500 mg de antibiótico cloranfenicol por litro. Estas muestras fueron repicadas hasta obtener el cultivo puro para hacer la respectiva descripción morfológica de la colonia y las estructuras a nivel de microscopio compuesto de luz.

La multiplicación de las cepas de *Trichoderma* realizamos en arroz pilado. Pesamos arroz 380 g en una balanza de brazo triple de 2610 kg, se depositó en bolsas de polipropileno de 9x14x2, después se adicionó 120 ml de agua glucosado al 2 %, se selló con grapas y se esterilizó al calor húmedo por 20 minutos a 121 °C y a 15 lb de presión. Una vez enfriado se procedió a la siembra a razón de 20 ml de suspensión del hongo a 10^3 (previamente calibrada con la cámara de Newbahuier) por cada bolsa.

4.6. Identificación de hongos fitopatógenos

Hojas enfermas de col o repollo con síntomas de manchas con anillos, de color y halo amarillo fueron colectadas en bolsa de papel, se etiquetó, embaló y se transportó al laboratorio de sanidad vegetal – Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto; donde se procedió al aislamiento y descripción de las características del agente causal y con las claves taxonómicas de (Burnett

and Hannter, 1971), (Ellis, 1971 y 1976), (Index Fungorum, 2012), procedimos a la identificación.

4.7. Conducción del experimento de campo

4.7.1. Sustrato utilizado y siembra en vivero

El sustrato para desarrollar las plántulas de repollo consistió en una mezcla suelo con humus a la proporción 1:1; iniciamos llenando los vasos de 3 onzas previamente perforados, seguidamente se realizó el riego con regadera de 10 l de capacidad, se esperó que el agua humedezca el sustrato y luego procedimos con la siembra colocando cuatro semillas por vaso, se cubrió con el sustrato seco.

Los vasos sembrados fueron ubicados en el tinglado de 4m ancho, 8m de largo y 1,8 m de alto, en seguida pulverizamos con fungicida Tiofanatometil más Methiran al 2,5 % para prevenir el ataque de chupadera fungosa en mezcla con Cypermetrina 0,5 % para prevenir el arrastre de las semillas por hormigas. Se regó diariamente hasta 28 días.

4.7.2. Preparación del campo experimental

Iniciamos con el control de malezas, aplicando 200 ml de glifosato, 15 días antes del trasplante con lo cual controlamos *Rottboellia exaltata*, *Digitaria sanguinalis*, *Digitaria* sp y *Leptochloa* sp. Las malezas como *Commelina difusa* fueron resistentes al herbicida por el cual se realizó el control mecánico. El suelo fue removido utilizando pala de corte con rastrillo, dejándole bien mullido listo para la siembra. El área donde instalamos el

experimento fue conducido en la campaña anterior con repollos corazón de buey, que fue infectada fuertemente por la mancha negra causado por el hongo *Alternaria brassicicola*.

4.7.3. Trazado del campo experimental

Preparado el suelo, procedimos al trazado del campo experimental, utilizando estacas de madera, wincha y dos varas de caña brava con sus respectivas medidas que a continuación se detalla:

Del campo experimental

- Área Experimental : 397,20 m²
- Largo : 29,20 m
- Ancho : 13,6 m
- Número de bloques : 3,0 m²
- Área de Bloques : 261,12 m²
- Área de Caminos : 136,08 m²
- Número de parcelas experimentales : 24 unidades

De los bloques

- Área del bloque : 87,04 m²
- Largo : 27,2 m
- Ancho : 3,2 m
- Número de parcelas : 8

De la parcela experimental

- Área de la Parcela Experimental : 7,68 m²
- Largo : 3,2 m
- Ancho : 2,4 m
- Área neta de la parcela Experimental : 5,6 m²
- Largo : 2,8 m
- Ancho : 2.0 m
- Número de plantas por parcela : 36 unidades
- Número de plantas de borde : 22 unidades
- Número de plantas del área neta : 14 unidades

4.7.4. Trasplante

Cuando las plántulas tenían 10 cm de altura, con cuatro hojas normales y 28 días en almacigo, ejecutamos el trasplante de las plántulas de la cola raíz cubierta con pan de tierra, minimizando de esta forma el estrés y daño de raíces secundarias.

4.7.5. Control fitosanitario

Con 100 g de arroz conteniendo las esporas del hongo *Trichoderma* fueron depositadas en un vaso de polycarbonato con 500 ml de agua, agitamos para separar las esporas del grano de arroz, luego tamizamos. Los granos que se quedaron en el tamiz depositamos en el recipiente, agregamos 500 ml de agua, se agitó y tamizó.

Obtenido la suspensión de la conidias en un litro de agua se procedió a medir en la cámara Neubauer; para determinar la concentración de las esporas de cada uno de las cepas (morfotipos) estudiados de *Trichoderma* sp. En el tratamiento testigo aplicamos a las plántulas de repollo con una pulverizadora limpia cada 15 días; en total realizamos tres aplicaciones.

4.7.6. Riego

El riego se realizó con agua de lluvia que fue almacenada previamente en tanque de eternith cuando la planta lo requería, por la mañana y tarde, utilizando regadera de 10 l de capacidad.

4.7.7. Control de malezas

El primer control de malezas se realizó utilizando pala de cortea dos semanas después de la siembra y el segundo control al momento del aporque, esta labor realizamos para evitar la competencia por agua, luz y nutrientes. Las maleza principales fueron *Commelina difusa*, *Leptochloa* sp., *Setaria viridis*, *Mentzelia aspera* y *Cleome viscosa*.

4.7.8. Aporque

El aporque se ejecutó a los 30 días después del trasplante, jalando el suelo con azadón desde el centro de la fila hacia la parte basal, con la finalidad de proteger el cuello de la raíz y las raíces del repollo.

4.7.9. Control de plagas

El control de *Atta* sp. y grillos de la especie *Grillotalpa* realizamos aplicando por espolvoreo 2 g de clorpirifos 5 % PS en el cuello de la raíz, cuando se observó la presencia y daños por estos insectos.

4.7.10. Cosecha

La cosecha se realizó a partir de los 60 días después del trasplante hasta 70 días, cortando el tallo de la col corazón de buey con una cuchilla a cuatro hojas de la cabeza, pesamos en una balanza de torsión de triple brazo. Por cada tratamiento se cosecharon 10 plantas. Se registró el peso por planta en cada tratamiento.

4.8. Diseño experimental y tratamientos

Se trabajó con Diseño de Bloques Completamente al Azar con 8 tratamientos y 3 bloques

Tabla 2: Tratamientos, Aleatorización y descripción de las muestras.

Tratamientos		Clave	Dosis		Bloques Randomizados		
Clave	Descripción		[esporas/ml]	Kg/ha	I	II	III
T1	Cepa Shatuyacu	CSH	10 ⁶	3	T4	T8	T6
T2	Cepa Ahuashiyacu	CAH	10 ⁶	3	T1	T5	T2
T3	Cepa Angashloma	CA1	10 ⁶	3	T8	T3	T3
T4	Cepa Cumbaza	CCU	10 ⁶	3	T7	T7	T5
T5	Cepa Maronilla	CMA	10 ⁶	3	T3	T1	T8
T6	Cepa Bijao 2	CA3	10 ⁶	3	T5	T6	T7
T7	Testigo Mancozeb	2,5	2,5	1,5	T2	T4	T4
T8	Testigo sin aplicación	-	-	-	T6	T2	T1

Fuente: Elaborado con datos de campo (Propio).

4.9. Variables dependientes

4.9.1. Descripción de las características de las cepas (morfortipos) de *Trichoderma* sp

Cada cepa de *Trichoderma* sp. fue aislada, se describió las características morfológicas de la colonia, estructuras vegetativas y estructuras propagativas.

4.9.2. Identificación del hongo fitopatógeno

Muestras de hojas enfermas fueron trasladadas al laboratorio de sanidad vegetal de fitopatología de la Universidad Nacional de San Martín para el análisis respectivo, se realizó cinco cámaras húmedas, que consistió en colocar dos muestras de hojas con la mancha negra, con anillos concéntricos en placa petri previamente acondicionada con papel toalla en el fondo y sobre este una lámina porta objeto de 2,54 cm de ancho por 5 cm de largo, en donde colocamos la muestra, luego se humedeció el papel toalla, incubándola durante tres días.

Estas muestras fueron observadas al microscopio, donde se observó el crecimiento de la estructura del patógeno. Con la ayuda de un estilete, procedimos a preparar muestras para el análisis microscópico observándose el micelio y la forma de las conidias; se midieron el largo y diámetro con la ayuda de una escala micrométrica circular. Con el mismo estilete se realizó la siembra de las estructuras del hongo fitopatógeno en medio de cultivo papa dextrosa agar al 1% glucosado. Se observó el crecimiento, el color de la colonia, la estructura del conidióforo y conidio del hongo en estudio.

4.9.3. Incidencia

La determinación de la incidencia se realizó contando el número de hojas enfermas y el número total de hojas por planta y en cada tratamiento evaluamos 10.

$$\text{Incidencia} = \frac{\text{Número de hojas enfermas}}{\text{Número total de hojas}} \times 100$$

4.9.4. Severidad

Se realizó evaluando 10 plantas por tratamiento, utilizando la escala de porcentaje de área foliar afectada de Horsfall - Barratt citada por Campbell y Madden, 1990. (Tabla 3).

Tabla 3: Escala de Horsfall - Barratt para evaluación de los valores porcentuales de las enfermedades y la fórmula para convertir los valores de clase de valores porcentuales para el análisis de promedio y los datos.

GRADO	PORCENTAJE (% Severidad e incidencia)	Valor utilizado para Conversión de nuevo a porcentaje	
		Punto Medio	Formula de Elanco ^a (%)
0	0	0	0
1	0 – 3	1,5	2,34
2	3 – 6	4,5	4,68
3	6 – 12	9,0	9,37
4	12 – 25	18,5	18,75
5	25 – 50	37,5	37,50
6	50 – 75	62,5	62,50
7	75 – 88	81,5	81,25
8	88 – 94	91,0	90,63
9	94 – 97	95,5	95,31
10	97 – 100	98,5	97,66
11	100	100,0	100

Fuente: Redman *et al.*, citado por Lee Campbell y Madden, (1990).

4.9.5. Longitud de las cabezas de repollo a la cosecha en centímetros

Con una cinta métrica medimos la longitud en centímetros de la cabeza del repollo cosechada, iniciando la medición desde la base hasta la punta. Se evaluaron 10 cabezas por tratamiento.

4.9.6. Circunferencia de la cabeza de repollo corazón de buey a la cosecha en centímetros

Con una cinta métrica medimos la circunferencia en centímetros de la cabeza del repollo cosechada. Se evaluaron 10 cabezas por tratamiento.

4.9.7. Peso de hojas verdaderas en gramos a la cosecha

En una balanza pesamos las hojas verdaderas del repollo cosechado expresado en gramos. Se evaluaron 10 cabezas por tratamiento.

4.9.8. Peso de la cabeza de repollo corazón de buey en gramos a la cosecha

En una balanza pesamos las cabezas del repollo cosechadas expresado en gramos. Se evaluaron 10 cabezas por tratamiento.

4.9.9. Análisis económico

Con los datos de campo, se elaboró los costos de producción, calculamos el ingreso bruto, la utilidad, la relación costo beneficio y la relación beneficio costo.

V. RESULTADOS

5.1. Descripción de las características de las cepas (morfotipos) de *Trichoderma* sp.

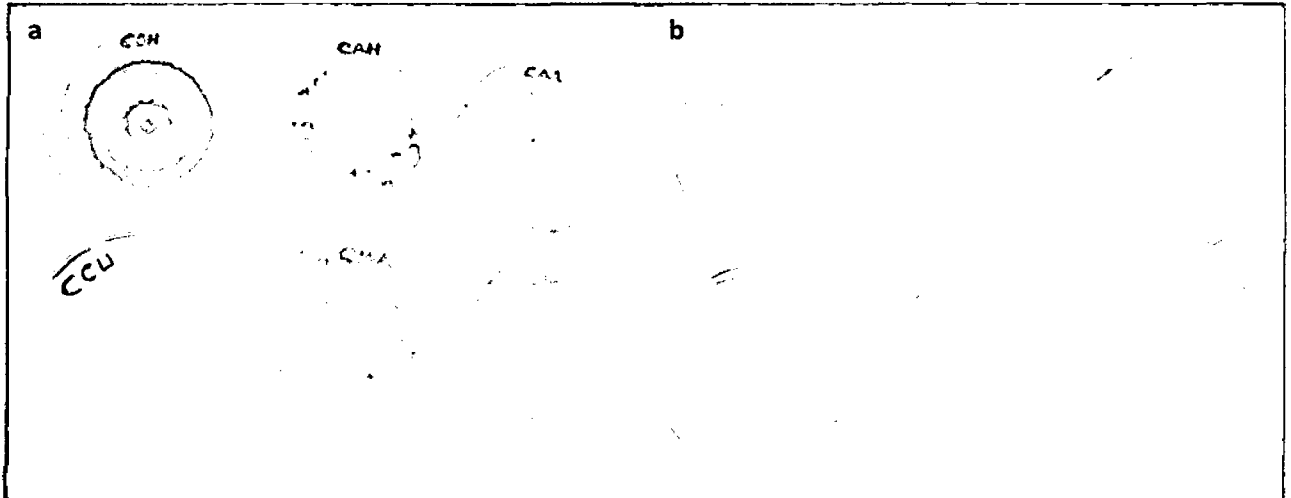


FIGURA1: Formación y características de las colonias a simple vista de los *Trichodermas* aislados, a.- vista posterior y b.- vista inferior. Fotos de F. M. Paredes.

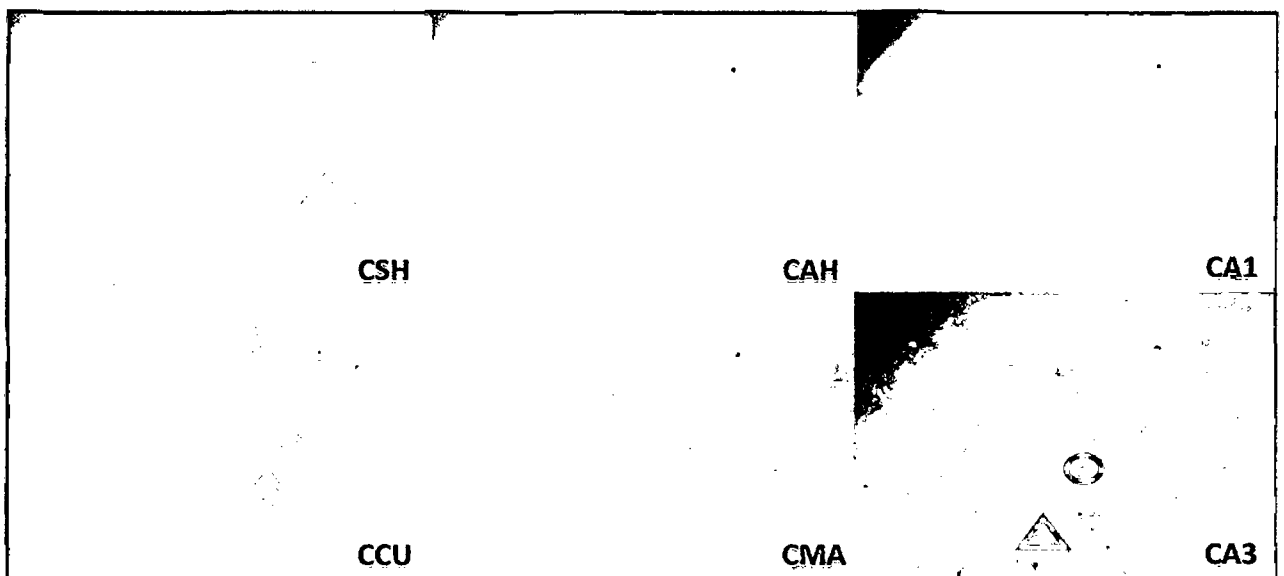


FIGURA 2: Características morfológicas observadas en el microscopio compuesto de las cepas de *Trichoderma*. Circulo: Clamidosporas. Cuadrado: Esporas Triángulo: conidióforos. Fotos E. J. Flores.

Tabla 4: Descripción de las características morfológicas de los Trichodermas observados en el microscopio compuesto.

Cepas	Colonia	Conidióforo	Conidio	Clamidosporas
CSH	Dos anillos de aspecto algodonoso velloso ovoides.	Hialino, cortos, gruesos.	Hialino, ovoide 2,6 - 3,9 μm x 3,9 - 5,4 μm	Pared gruesa, ovoide y globosas, terminales e intercalares 7,8 - 13 μm, escasos, hialino
CAH	No se diferencian anillos, tiene pústulas.	Hialino, Rectos, ramificado y cortos.	Hialino, ovoide 2,6 x 3,9 μm	Pared gruesa, globosos, terminales 6,5 - 10,4 μm de diámetro, abundante, hialino
CA1	Colonia de textura plumosa con tres anillos	Hialino, rectos, cortos ramificado	Hialino, ovoide 1,3 - 3,9 μm x 2,6 - 5,4μm	Pared gruesa, globosos y ovoides 10,4 - 13μm, 10,4 x 13μm abundante, hialino
CCU	Colonia de textura plumosa con tres anillos	Hialino, rectos, cortos, ramificado	Hialino, globosa, 1,95 – 3,9 μm en diámetro	Pared gruesa, globosa, terminal, 5,2 – 10,4 μm de diámetro, hialino
CMA	Colonia algodonosa con dos anillos.	Hialino, rectos, Cortos ramificado	Hialino, globosa, 2,6 μm	Pared gruesa, globosa intercalar. Escaso. Hialino
CA3	Colonia algodonosa con dos anillos.	Hialino, rectos, cortos, Gruesos, ramificado	Hialino, ovoide, alargado 2,6-3,9 x 5,2-7,4 μm	Pared gruesa, ovoides, intercalar, abundante.,

5.2. Identificación del hongo fitopatógeno

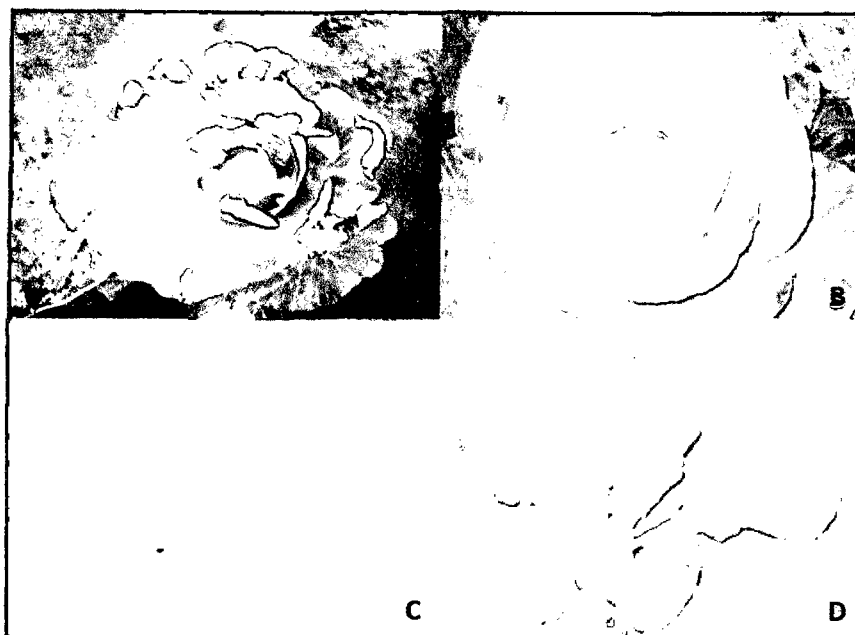


FIGURA 3: A, B y D) planta sana, C) Síntoma pre-necróticos: halo amarillo y síntomas necróticos mancha con anillos concéntricos de color marrón a marrón oscuro, donde observó las estructuras diminutas a simple vista y con ayuda del Microscopio estereoscopio se vieron las conidias pegadas al conidióforo.

La enfermedad mancha negra de la col, afecta a las diferentes hojas con encharcamiento, puntos negros y mancha marrón concéntrica rodeado por un halo amarillo. Esta enfermedad empieza a partir de las hojas basales hacia las hojas superiores llegando inclusive a invadir todas las hojas exteriores de la cabeza dando un color negro, momificándoles que da un aspecto de baja calidad del repollo. La epidemia se ha dado en forma natural en el campo con temperatura mínima de 19,9 °C a 20,7 °C, temperatura media de 25,95 °C a 26,90 °C, temperatura máxima de 31,9 °C a 33,1 °C, humedad relativa 81 % a 82 % y precipitación de 120,2 mm a 254,2 mm con altitud de 720 m.s.n.m.m. Suelo con pH 5,73 han sido óptimos para desarrollo de la epidemia. La enfermedad no afectó en vivero pero en el campo definitivo inicia desde el mes de trasplantado hasta el final de la cosecha.

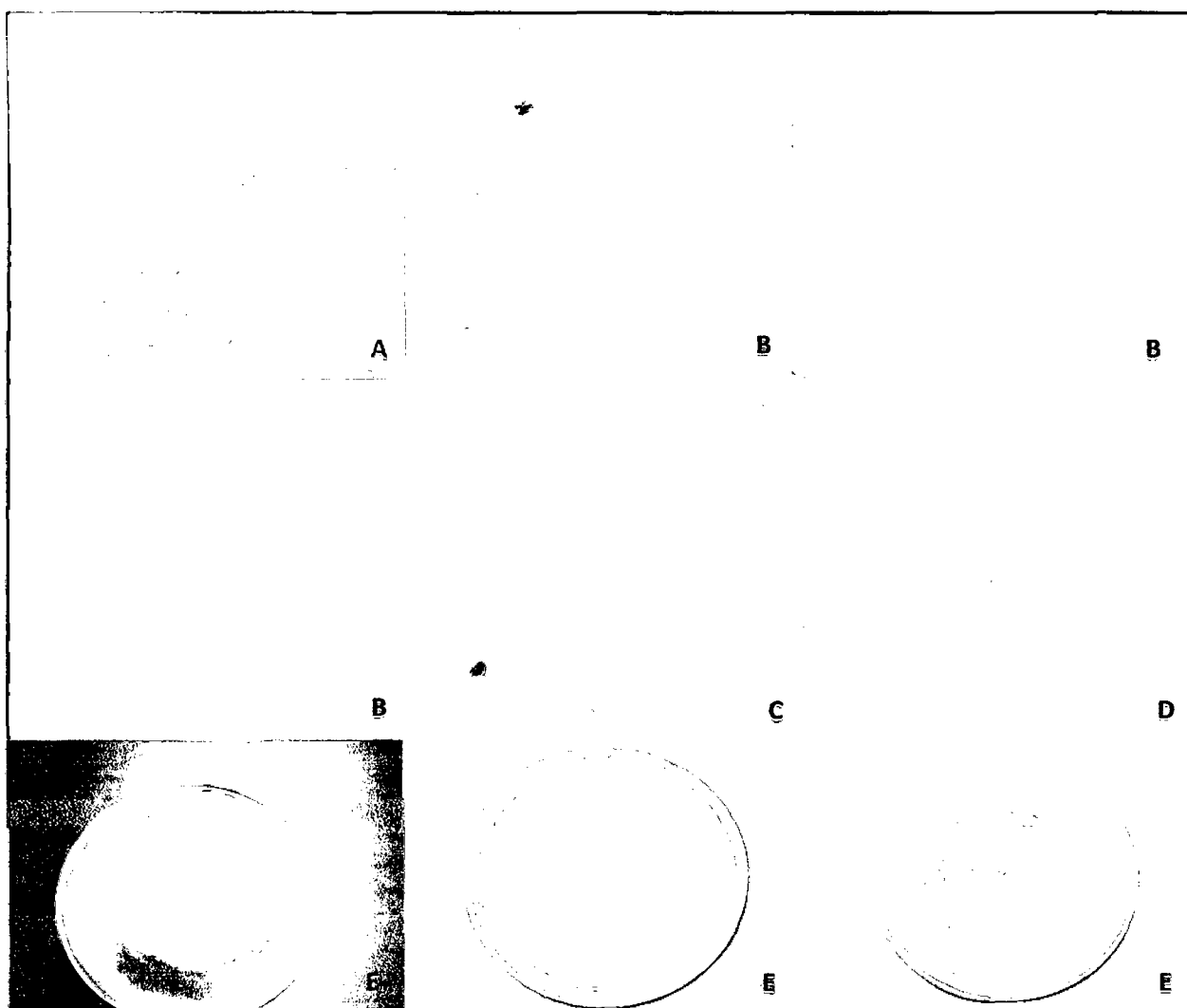


Figura 4: A) Micelio en cámara húmeda, B) Hifas y micelio con fialides en mp, C) Conidias muriformes con septa transversales, oblicuas y horizontales. D) conidios en cadenas, y E) Colonias en PDA.

5.3. Incidencia de *Alternaria brassicicola* en las hojas verdaderas de la col corazón de buey a la cosecha.

Tabla 5: ANVA para la incidencia de *Alternaria brassicicola* en las hojas verdaderas de la col corazón de buey a la cosecha.

Fuentes de Variabilidad	G.L	S.C	C.M	F.C	p – VALOR	SIGNIF.
Bloque	2	0,04	0,02	1,58	0,2403	N.S
Tratamientos	7	0,19	0,03	2,35	0,0828	N.S
Error Experimental	14	0,16	0,02			
Total	23	0,39				

N.S.: No significativo

$R^2=$ 58,30 % C.V= 9,49 % $S_x=$ 0,11 $X=$ 1,13

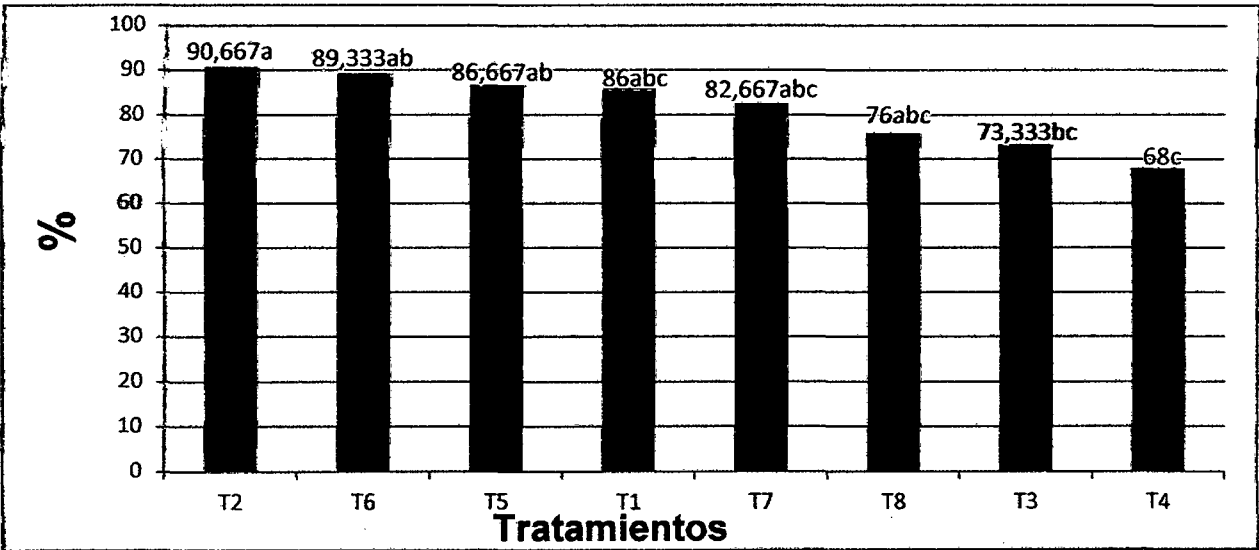


Gráfico 1: Prueba de Duncan para la Incidencia de *Alternaria brassicicola* en las hojas verdaderas de la col corazón de buey a la cosecha.

5.4. Severidad de la enfermedad mancha negra del repollo expresado en área foliar afectada.

Tabla 6: ANVA para el porcentaje de área foliar afectada de la col corazón de buey a la cosecha.

Fuentes de Variabilidad	G.L	S.C	C.M	F.C	p – VALOR	SIGNIF.
Bloque	2	0,01	0,002	1,14	0,3467	N.S
Tratamientos	7	0,12	0,017	7,80	0,0006	*
Error Experimental	14	0,03	0,002			
Total	23	0,16				

N.S.: No significativo *: Significativo

$R^2=$ 80,25 % C.V= 13,79 % $S_x=$ 0,05 $X=$ 0,34

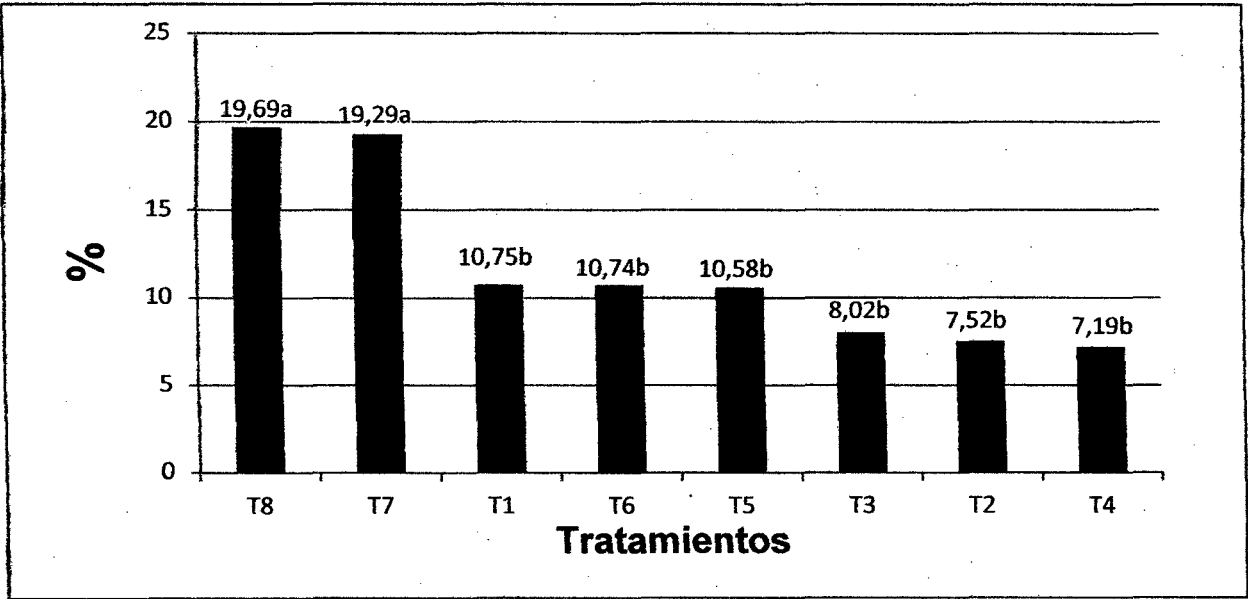


Gráfico 2: Prueba de Duncan para el porcentaje de área foliar afectada de la col corazón de buey a la cosecha.

Tabla 7: Severidad del daño ocasionado por *Alternaria brassicicola* en la hoja de la col.

SEVERIDAD		
TTOS	AFA (Área Foliar Afectada) %	GRADO
T8	19,69	4
T7	19,29	4
T1	10,75	3
T6	10,74	3
T5	10,58	3
T3	8,02	3
T2	7,52	3
T4	7,19	3

5.5. Longitud de las cabezas de la col a la cosecha en centímetros.

Tabla 8: ANVA para la longitud de las cabezas de la col a la cosecha en centímetros.

Fuentes de Variabilidad	G.L	S.C	C.M	F.C	P – VALOR	Signif.
Bloque	2	0,84	0,42	0,10	0,9026	N.S
Tratamientos	7	87,47	12,49	3,07	0,0352	N.S
Error Experimental	14	56,97	4,07			
Total	23	145,28				

$R^2= 60,78 \%$ $C.V= 9,98 \%$ $S_x= 2,02$ $X= 20,20$

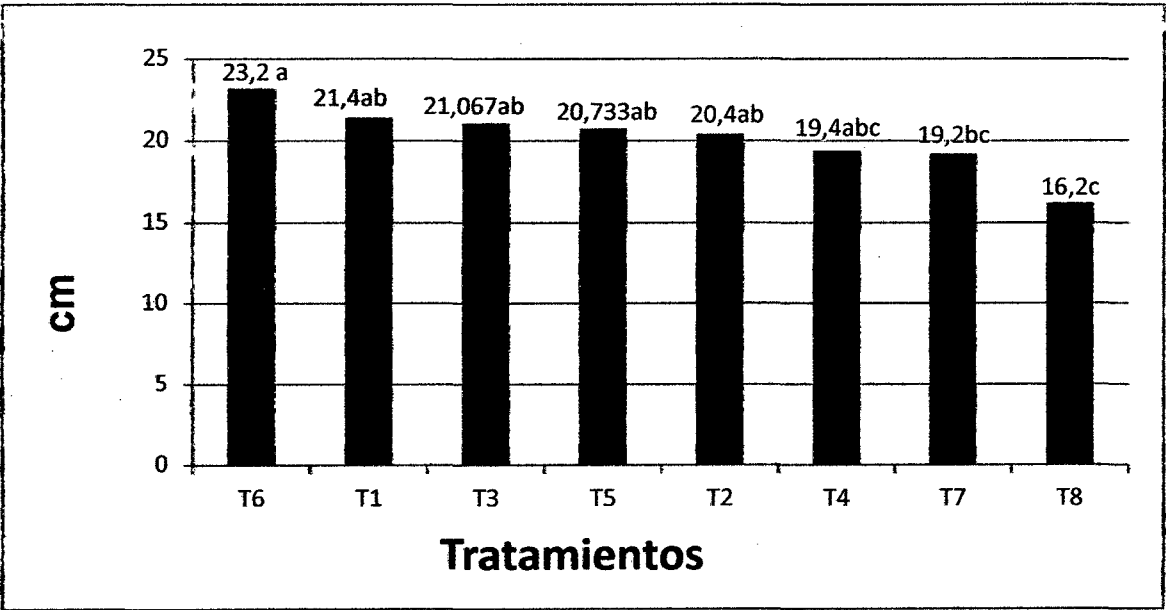


Gráfico 3: Prueba de Duncan para la longitud de cabeza de la col corazón de buey a la cosecha en centímetros.

5.6. Circunferencia de cabeza de col corazón de buey a la cosecha en centímetros.

Tabla 9: ANVA para circunferencia de cabezas de col corazón de buey a la cosecha en centímetros.

Fuente de Variabilidad	G.L	S.C	C.M	F.C	p – VALOR	SIGNIFICANCIA
Bloque	2	25,56	12,78	2,27	0,1404	N.S
Tratamientos	7	76,49	10,93	1,94	0,1383	N.S
Error Experimental	14	78,94	5,64			
Total	23	180,99				

N.S.: No significativo

$R^2= 56,38 \%$ $C.V= 5,79 \%$ $S_x= 2,37$ $X= 40,95$

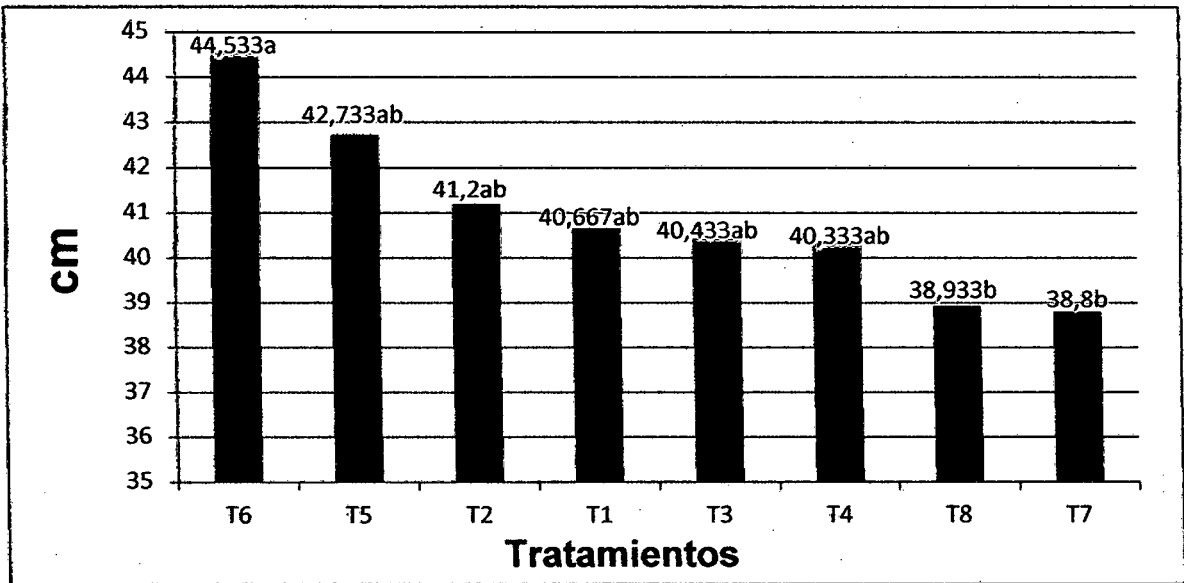


Gráfico 4: Prueba de Duncan para la circunferencia de cabezas de col corazón de buey a la cosecha en centímetros.

5.7. Peso de hojas verdaderas en gramos a la cosecha.

Tabla 10: ANVA para el peso de las hojas verdaderas en gramos a la cosecha.

Fuente de Variabilidad	G.L	S.C	C.M	F.C	p-VALOR	SIGN.
Bloque	2	2326,58	1163,29	2,92	0,087	N.S
Tratamientos	7	50896,00	7270,86	18,28	<0,0001	**
Error Experimental	14	5568,75	397,77			
Total	23	58791,33				

N.S.: No significativo **: Altamente significativo

$R^2 = 90,52 \%$ C.V= 6,18 % $S_x = 19,94$ $X = 322,66$

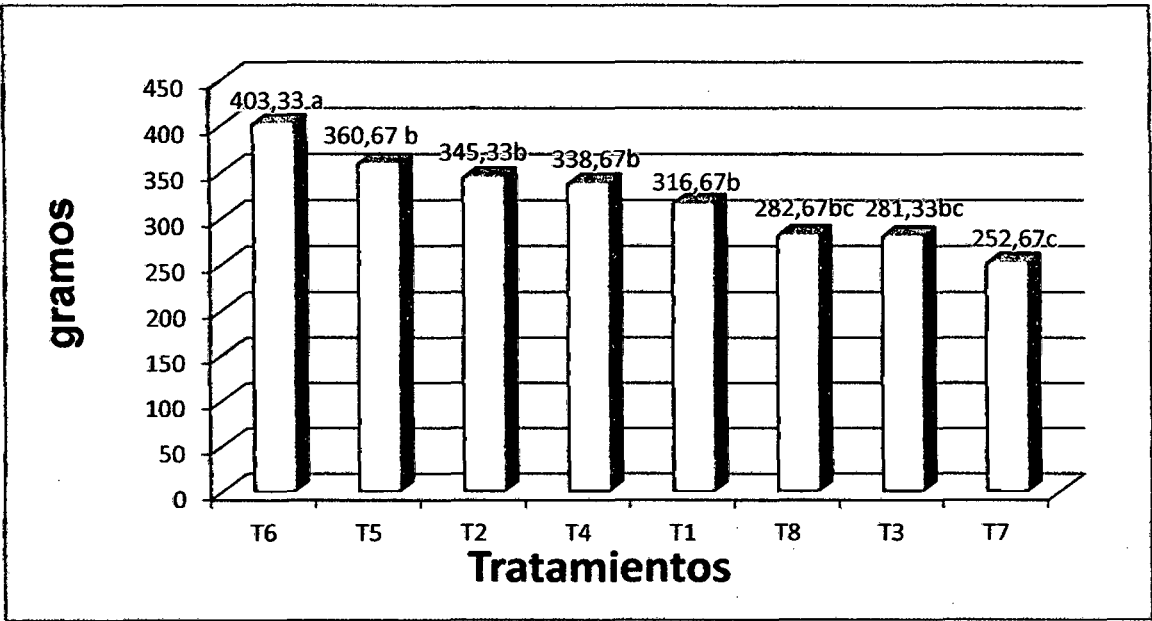


Gráfico 5: Prueba de Duncan para el peso de las hojas verdaderas en gramos a la cosecha.

5.8. Peso de cabeza de la col corazón de buey en gramos a la cosecha.

Tabla 11: ANVA para el peso de cabeza de la col corazón de buey en gramos a la cosecha.

F de V	G.L	S.C	C.M	F.C	P – VALOR	SIGNIF
Bloque	2	2529,33	1264,67	1,71	0,2168	N.S
Tratamientos	7	62138,0	8876,86	11,99	0,0001	**
Error Experimental	14	10364,00	740,29			
Total	23	75031,33				

N.S.: No significativo ** : Altamente significativo

$R^2=$ 86,18 % C.V= 5,14 % $S_x=$ 27,21 $X=$ 529,17

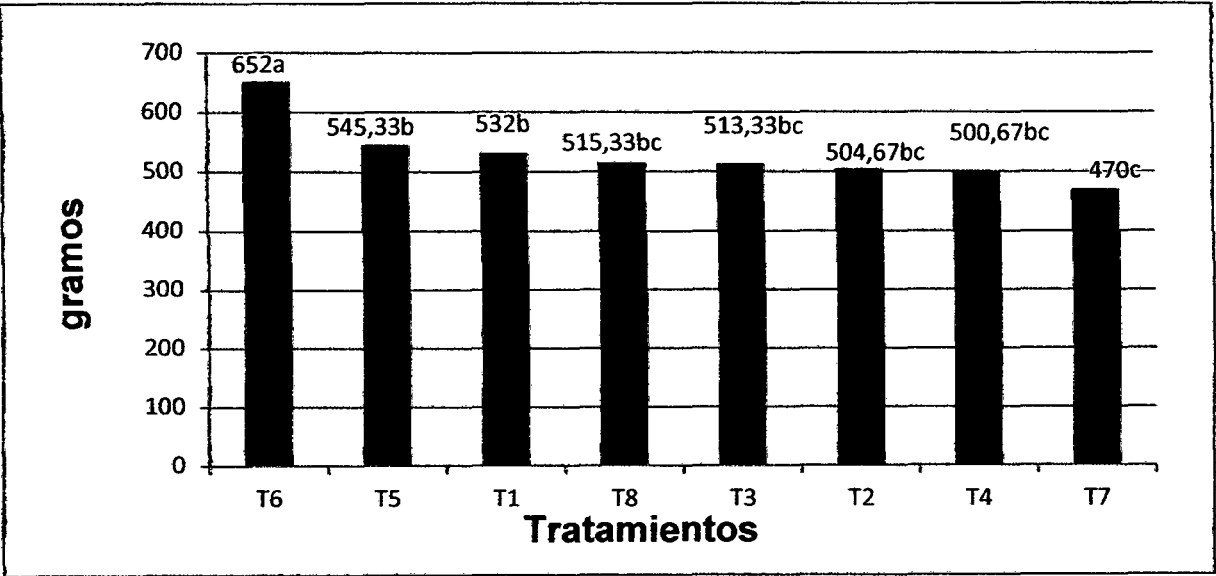


Gráfico 6: Prueba de Duncan para el peso de cabeza de la col Corazón de buey en gramos a la cosecha.

5.9. Análisis Económico

Tabla 12: Análisis económico para la producción del cultivo de la col corazón de buey.

TTOS	COSTO DE PRODUCCIÓN (S./) a	RENDIMIENTO Kg/ha b	precio de venta por Kg (S./) c	Beneficio Bruto (S./) d	Beneficio (S./) d-a = e	RELACIÓN COSTO/BENEFICIO (a/d)*100	RELACIÓN BENEFICIO/COSTO (d/a)	Rentabilidad (e/d)*100
T1	7446,00	22299,84	0,50	11149,92	3703,92	66,78	1,50	33,22
T2	7406,00	21154,25	0,50	10577,13	3171,13	70,02	1,43	29,98
T3	7406,00	21517,25	0,50	10758,63	3352,63	68,84	1,45	31,16
T4	7366,00	20986,58	0,50	10493,29	3127,29	70,20	1,42	29,80
T5	7446,00	22858,60	0,50	11429,30	3983,30	65,15	1,53	34,85
T6	7646,00	27329,88	0,50	13664,94	6018,94	55,95	1,79	44,05
T7	7436,00	19700,99	0,50	9850,50	2414,50	75,49	1,32	24,51
T8	7391,00	21601,09	0,40	8640,44	1249,44	85,54	1,17	14,46

El precio de venta al mercado fue determinado en 2 precios: S/. 0,50 para las cabezas grandes y sin mancha negra y a S/. 0,40 para las cabezas de col que presentaron baja calidad.

VI. DISCUSIONES

6.1. De la descripción de las características de las cepas (morfotipos) de *Trichoderma*

Según características morfológicas y biométricas descritas de los seis aislamientos de *Trichoderma* aislados de suelo del Bajo Mayo, difieren entre ellas por la forma de colonia, conidióforo, conidias y clamidosporas. Asimismo se observa que se difieren en el diámetro y la longitud de las estructuras estudiadas; cada cepa aplicada en el campo tuvo diferente respuesta en el biocontrol del hongo *Alternaria brassicicola*.

Las características morfológicas macroscópicas y microscópicas de las cepas del género *Trichoderma* descrita por Watanabe (2002) y Samuels (2004), las cepas de *Trichoderma* CSH, procedente de Shatuyacu del distrito de Juan Guerra presenta dos anillos de aspecto algodonoso vellosos ovoides con clamidosporas de pared gruesa ovoide terminales e intercalares escasas, a diferencia de la cepa Ahuashiyacu CAH, procedente de la Banda de Shilcayo no se diferencia anillos, tiene pústulas, conidia hialina ovoide con clamidosporas de forma globosa terminal abundante.

La CA1 procedente de suelos de Angashloma y CCU, cepa Cumbaza son procedentes del distrito de Morales, presentan colonias de textura plumosa con tres anillos. La CA1 tiene conidia ovoide, clamidosporas globosa y ovoide abundante y CCU tiene conidia globosa con clamidosporas globosa y terminal. La CMA presenta colonia algodonosa con dos anillos, conidia

globosa y clamidosporas globosa intercalar escasa. El CA3 cepa del Bijao2 tiene colonia de aspecto algodonosa con dos anillos, conidia ovoide alargada, clamidosporas ovoide abundante. Todas las cepas estudiadas tienen conidias hialinas y clamidosporas con pared gruesa hialina, sus colonias tienen el color verde que varían según la tabla de colores (FIGURA 6), RV60 en el anverso (CSH, CMA, CAH y CA3), en el reverso RV130 (CMA y CA3) RV179 (CSH y CAH), R6018 (CCU y CA1). Estas observaciones realizadas son muy semejantes a lo descrito (Rodríguez y Flores, 2011). El *Trichoderma* está en ambiente y especialmente en suelo (Villegas, 2008) tal como las muestras que aislamos de diferentes suelos del Bajo Mayo.

6.2. Del patógeno

La sintomatología presentada en la hoja de la col por la enfermedad se le conoce como mancha negra (Domínguez y Tófoli, 2010), sus características de sus colonias, clamidosporas y conidias son similares a lo descrito para *Alternaria brassicicola* (Elles, 1987); este hongo afecta al brócoli en San Roque, en Acaloma afecta a la col, que nos demuestra que afecta a otras especies de crucíferas (Domínguez y Tófoli, 2010) y (Sandoval y Flores, 2012).

6.3. Incidencia de *Alternaria brassicicola* en las hojas verdaderas de la col corazón de buey al momento de la cosecha

El análisis de varianza de la incidencia en las hojas basales de la col corazón de buey expresado en porcentaje presentado en la Tabla 5, resultó no significativo a nivel de Bloque y Tratamiento. El coeficiente de determinación

$R^2 = 58,30 \%$, nos demuestra que la aplicación de Trichoderma (CSH, CAH, CA1, CCU, CMA, CA3) y los testigos, han influenciado en 58,30 % en la incidencia de la enfermedad, mientras que el 41,70 % dependieron de la fertilización, humedad y temperatura.

La prueba de Duncan para la Incidencia del hongo de *Alternaria brassicicola* que causa la enfermedad de la mancha negra de la col corazón de buey presentado en el Gráfico 1, se observa que existe diferencia estadística entre los Trichodermas estudiados y los testigos comparados. Las cepas T2 (CAH), T6 (CA3), T5 (CMA), T1 (CSH) con T7 que es control químico y T8 testigo absoluto en cuanto a la incidencia, no se diferencia estadísticamente y han registrado la mayor incidencia de la enfermedad de mancha negra de la col corazón de buey en el Fundo Aucaloma en Lamas, San Martín; en cuanto a las aplicaciones con cepas de Trichoderma, se registran mayor número de hojas enfermas, pero menor área foliar afectada lo cual se corrobora con el gráfico 2, debido que el hongo biocontrolador requiere de su hospedante para alimentarse, en este caso es la *Alternaria brassicicola*; el modo de acción Trichoderma es mediante micoparasitismo, antibiosis y acción de litiasis que reduce la colonización del fitopatógeno en la células y tejido de su hospedante.

El T4 (CCU), ha registrado la menor incidencia diferenciándose estadísticamente de toda las demás cepas de Trichoderma y los testigos con 68% de Incidencia en hojas de col corazón de buey.

La incidencia de la enfermedad en las coles que estuvieron en estudio con el T7 testigo con Mancozeb 2,5 % y T8 testigo absoluto, para este es más cualitativa que cuantitativa, esto es corroborado por Zavaleta - Megia, 2000 cuando afirma que el objetivo del control biológico es reducir las poblaciones del patógeno y logramos obtener cosechas redituales para el agricultor.

6.4. Severidad de la enfermedad mancha negra del repollo expresado en área foliar afectada a la cosecha

El análisis de varianza del área foliar afectada (Severidad) en las hojas basales e intermedias de la col corazón de buey en el Fundo Aucaloma en Lamas Tabla 6, resultó significativo para los tratamientos; por lo tanto nos indica que existe diferencia de media entre los tratamientos estudiados. El coeficiente de determinación $R^2 = 80,25 \%$, nos explica que los tratamientos estudiados han influenciado en la severidad de la enfermedad mancha negra de la col corazón de buey, y el 19,75 % depende de otros factores. Su coeficiente de variabilidad de 13,79 % nos indica que la evaluación se catalogó como muy excelente según la escala de evaluación presentada por calzada, 1972.

La prueba de Duncan para el área foliar afecta (Severidad) de las hojas basales e intermedias de la col corazón de buey (Gráfico 2), resultó con significancia estadística entre los tratamientos estudiados, mostrando mayor área foliar afectada, el testigo absoluto T8 con 19,69 cm² y testigo de control químico T7 con 19,29 cm², no se diferencian estadísticamente, superando estadísticamente a los demás tratamientos; esto nos explica que todo los

tratamientos con cepas de *Trichoderma* han reducido a la población y actividad del hongo de *Alternaria brassicicola* causante de la mancha negra de la col, mostrando semejanza con Zavaleta - Megia, 2000 cuando menciona que el control biológico, no debe ser objetivo de eliminar el patógeno responsable de la enfermedad, sino más bien de su prevalencia logremos rendimientos económicos redituables para el agricultor.

6.5. Longitud de las cabezas de la col a la cosecha en centímetros

El valor de F (Tabla 8), para probar la hipótesis nula en los tratamientos cuyo valor de F_c es 3,07, el comparado con F 0,05 y F 0,01 (cuyo valores en la Tabla IV de Calzada 1970, para 2 y 9 Grados de Libertad 4,74 y 9,55), indica que no existe diferencia significativa (N.S).

Su coeficiente de variabilidad de 9,98 %, según la escala propuesta por calzada 1970, se ubica en 5 y 10 que corresponde a una evaluación excelente y el valor de $R^2 = 0,6078$ indica que el 60,78 % se debe al efecto a los tratamientos estudiados con respecto a la longitud.

La prueba de Duncan (Gráfico 3), para la longitud de cabeza, el tratamiento T6 (cepa CA3), T1 (cepa CSH), T3 (cepa CA1), T5 (cepa CMA) y T2 (cepa CAH), obtuvieron mayores longitudes de la cabeza de la col corazón de buey en comparación con el T8 (testigo), que tuvo diferencia estadística con T4 (cepa CCU) y T7 (Testigo químico); por lo tanto al aplicar cepas de *Trichoderma* sp. aislado de forma natural han contribuido mejorando la longitud de la cabeza de la col corazón de buey, debido a su actividad de

micoparasitismo (Pérez, 2004) y su crecimiento quimiotrófico que tiene al patógeno (Chet y Benhamou, 1988), esto nos demuestra que tiene un elevado potencial parasítico.

6.6. Circunferencia de cabeza de col corazón de buey a la cosecha en centímetros

El valor de F_c (Tabla 9), para probar la hipótesis nula para bloques y tratamientos. F calculada es 2,27 y 1,94 respectivamente, el que comparado con $F_{0,05}$ y $F_{0,01}$ (cuyo valores en la Tabla IV de Calzada 1970, para 2 y 9 grados de libertad 4,74 y 9,55), indica que no existe diferencia significativa (N.S).

Su coeficiente de variabilidad de 5,79 según la escala propuesta por Calzada 1970, se ubica entre 5 y 10 que corresponde a una evaluación excelente y el valor de $R^2 = 0,5638$ que explica que el 56,38 % corresponde al efecto de las aplicaciones de los tratamientos con cepa de *Trichoderma* en circunferencia de las cabezas de la col corazón de buey, mientras que el 43,62 % se deben a otros factores como la acidez del suelo y la cantidad de inóculo presente en el campo.

En la prueba de Duncan (Gráfico 4) de la circunferencia de la cabeza de las coles corazón de buey, se observa que existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados con cepas de *Trichoderma*. El tratamiento T6 (CA3) con 44,533 cm, no tiene diferencia estadística con los tratamientos T5 (CMA), T2 (CAH), T1 (CSH), T3 (CA1) y T4 (CCU). El T8 que es testigo sin la

aplicación del *Trichoderma* no se diferencia de los tratamientos T5 (CMA), T2 (CAH), T1 (CSH), T3 (CA1), T4 (CCU) y T7 testigo químico, pero si del tratamiento T6 (CA3).

La cepa de *Trichoderma* de procedencia T1 – CSH que corresponde al aislamiento realizado del suelo del sector Shatuyacu, tiene mejor actividad antagónica y micoparasítica; este resultado nos muestra que son similares a lo descrito por (Pérez, 2004) y (Díaz, 1994), con respecto al modo de acción del biocontrol.

6.7. Peso de hojas verdaderas en gramos a la cosecha

El valor de F (Tabla 10) para probar las hipótesis nula en los tratamientos, el que comparado con F 0,05 y F 0,01 (cuyos valores en la tabla IV de Calzada 1970 para 2 y 9 G.L 4,74 y 9,55), indica que altamente significativo (**), lo cual está demostrando que hay evidencia entre promedio del peso de hojas verdaderas y maduras de los tratamientos estudiados. No existe diferencias significativas entre bloques, esto indica que no se ha tenido éxito en reducir la varianza del error por el agrupamiento de unidades experimentales en bloques porque han resultado muy homogéneas. Su coeficiente de variabilidad de 6,18 %, según la escala propuesta por calzada 1970 se ubica entre 5 y 10 que corresponde a una evaluación excelente. El valor de $R^2 = 0,9052$, que quiere decir que 90,52 % corresponde al peso de las hojas verdaderas evaluadas.

La prueba de Duncan (Gráfico 5) para el peso de las hojas verdaderas al momento de la cosecha resultó con diferencia estadística significativa entre los tratamientos estudiados, los tratamientos T6 (CA3), superó en peso al T8 (Testigo) que no tuvo tratamiento y estuvo fuertemente afectada por la mancha foliar causada por el hongo *Alternaria brassicicola* y a los demás tratamientos.

6.8. Peso de cabeza de la col corazón de buey en gramos a la cosecha

El análisis de varianza del peso promedio en gramo de las cabezas de col corazón de buey presentado en la Tabla 11, resultó altamente significativo entre los tratamientos estudiados, al superar el F calculado a 11,99 nivel de $F_{0,05}$ es de 4,74 y $F_{0,01}$ es de 9,55. El coeficiente de determinación $R^2 = 86,18\%$, nos demuestra que la aplicación de cepas de *Trichoderma* han influenciado en el promedio de pesos de las cabezas (Little y Hills, 2002). Mientras que el coeficiente de variabilidad es de 5,14 %, nos demuestra que la evaluación se califica muy excelente, según la escala que presenta Calzada, 1970.

La prueba de Duncan presentado en la Gráfico 6, del peso promedio de la cabeza de col corazón de buey por planta, resultó con significancia estadística, observando que la cepa de *Trichoderma* (CA3) con 652 g superó estadísticamente a las cepas CMA, CSH, el testigo absoluto T8, CA1, CAH y CCU y se superó al testigo con fungicida T7. Las cepas de *Trichoderma* CA3, ha mostrado mejor actividad de hiperparasitismo y de antibiosis al reducir la actividad de *Alternaria brassicicola* que causa la mancha negra de la col

corazón de buey, en el Fundo Aucaloma que pertenece a Lamas a una altura de 720 m.s.n.m.m. superando al testigo absoluto T8 y al testigo de control químico T7.

Estos resultados, nos explica que existen diferentes cepas de *Trichoderma* en el Bajo Mayo que pueden ser aisladas y probado su actividad biológica contra hongos fitopatógenos en estudio.

6.9. Del análisis económico

Los costos de producción que se observan en la Tabla 12, difieren por aplicación del controlador biológico al rendimiento de cada tratamiento estudiado, tal se observa en el tratamiento T6 (CA3), que obtuvo 27 329,80 tn.ha⁻¹, tiene mayor costo de producción de S/. 7 646,00 nuevos soles, comparado con el tratamiento T8 que corresponde al testigo que es S/. 7 391,00 nuevos soles. En la misma Tabla 12, se observa que los rendimientos que corresponden a los tratamientos con fungicida han superado al tratamiento T8 (testigo neto), los tratamientos con el controlador biológico de *Trichoderma* T6 (CA3), T2 (CAH), T1 (CSH). Por otro lado los precios han variado por el tamaño de la cabeza, se vendió a mayor precio las cabezas de mayor diámetro y sin mancha a una suma de S/. 0,50, mientras que el tratamiento con fungicida tuvieron menor calidad y consecuentemente su venta fue de S/. 0,40 por cabeza.

Los costos de producción de los tratamientos estudiados son menores a los observados por Sandoval (2012), cuando realizó ensayos de fertilización con

humus y roca fosfórica de Bayovar, indicando a la vez que el rendimiento se ve afectado por la incidencia y severidad de las enfermedades ocasionadas. Mientras que la relación costo de producción nos dio positivo en todo los tratamientos, la cual nos explica que no hubo pérdidas pero si caída de precio por calidad de la cabeza. Se obtuvieron mayor ganancia con el tratamiento T6 (CA3) donde obtuvo beneficio neto de 55,95 %, mientras con el testigo se obtuvo 85,54 % de costo en el beneficio y este resultado al comparar con los estudios realizados por Sandoval (2012), son inferiores a los obtenidos en este trabajo de investigación.

En la relación Beneficio/Costo en todos los tratamientos supera el valor de 1, hecho que nos indica que por cada S/. 1,00 invertido en la producción de la col, se ha ganado, siendo mayor el tratamiento T6 (CA3), T5 (CMA), T2 (CAH), T3 (CA1) T4 (CCU).

VII. CONCLUSIONES

- 7.1. De los aislamientos logramos 6 cepas distintas de *Trichoderma*, las cuales fueron multiplicadas y aplicadas al cultivo de la col mejorando el rendimiento.
- 7.2. Los mejores efectos observados en la col corazón de buey se tuvo con la Cepa de *Trichoderma* aislado del sector Bijao con código CA3, porque se obtuvieron cabezas con longitud 23,2 cm, circunferencia 44,533 cm, peso 652 g; peso de hojas verdaderas 403,33 g y rendimiento de 27 329,88 kg.ha⁻¹.
- 7.3. Las cepas de *Trichoderma* CCU y CA1 con 68 % y 73,33 %, registraron la menor incidencia de la mancha negra de la col corazón de buey, causada por el hongo *Alternaria brassicicola* y las 6 cepas de *Trichoderma* CSH, CAH, CA1, CCU, CMA y CA3, redujeron la severidad de la mancha negra de la col corazón de buey, sin diferencia estadística entre ellos; con área foliar afectada entre 7,19 % a 10,75 %. Todos con grado 3.
- 7.4. Según la relación Costo/Beneficio y Beneficio/Costo la mayor ganancia se tuvo con el Tratamiento T6 (CA3) y T5 (CMA).

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1.** Se recomienda mantener las cepas de los Trichodermas en la micoteca del laboratorio de Sanidad Vegetal y así mismo multiplicar la cepa CA3 para un futuro cercano brindar servicios con estos controladores biológicos.

- 8.2.** Continuar haciendo investigación con estas cepas de Trichoderma mediante pruebas duales y campo para poder reemplazar a los productos fungicidas convencionales y obtener mayores cosechas con buena calidad.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barnett, H. L. and B. B. Hunter. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. St. Paul, Minnesota. USA APS. PRESS. 218 p.
2. Calzada, J. (1970). Métodos Estadísticos para la Investigación. Editorial Jurídica. Tercera Edición. Lima Perú. 644 p.
3. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. (CATIE). (1990). Guía para el Manejo Integrado de Plagas del cultivo del Repollo. Proyecto Regional MIP. Turrialba, Costa Rica. Serie Técnica. Informe Técnico.
4. Chet, I, and S. H. Benhamou. (1988). Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds.). Volumes 2.P.153 - 152. Taylor & Francis Ltd. London, UK.
5. Cronmwealth Micology Institute. (1992). Manual para Patólogos Vegetales. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe Printed in Great Britain by Lamport Gilbert Printers Ltd. 429 p.
6. Dennis, L. and J. Webster. (1971). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III Hyphalinteraction. Trans Br Mycol Soc. 57: 363 - 369.
7. Díaz, J. (1994). Algunos aspectos biológicos de *Trichoderma* y su posible uso como biocontrol. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana.
8. Domínguez, R. J. y Töfoli, J. G. (2010). *Alternarioses em hortaliças: sintomas, etiología e manejo integrado*. www.biologico.sp.gov.br.
9. Ellis, M. B. (1971). "Dematiaceous Hyphomycetes". Commonwealth Micology Institute Kew, Surrey, England, 507 pp.

10. Ellis, M. B. (1976). "More Dematiaceous Hyphomycetes" C.A.B. International Mycological Institute Kew, Surrey, England, 507 pp.
11. Fuentes, F. (2003). Centro Nacional de tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), 2003, Cultivo del Repollo. Guía Técnica N° 16. El Salvador.
12. Fundación de Desarrollo Agropecuario (FDA). (1993). Cultivo del Repollo. Boletín N° 18. Santo Domingo - República Dominicana.
13. Giaconi, V. (2004). Cultivo de hortalizas. Editorial universitaria. Santiago de Chile. 254p.
14. Little, T. M. y F. J. Hills. (2002). Métodos Estadísticos para la investigación en la agricultura. Industria Editorial S. A. Segunda edición 1989 y cuarta reimpresión. México. 270p.
15. Lorenzo, N. (2001). Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cien fuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Tesis en opción al título de Master en Protección Vegetal Universidad Agraria de La Habana. 2001.
16. Martínez, B. Reyes, Yusimy; Infante Danay; González, E. Baños Heyker, y A. Cruz. (2008). Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. Candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Rev Protección Veg. 2008.
17. Michel - Aceves, Otero - Sánchez, Martínez - Rogero, Ariza - Flores, Barrios - Ayala y Rebolledo - Martínez, (2008). Control Biológico *in vitro* de enfermedades fungosas en tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). Avances de Investigación Agropecuaria.
18. Olalde. V. (2008). Estructura de la población de *Phomalingam* y *Alternaria brassicae* y su control biológico en Guanajuato.

19. Pérez, N. (2004). Manejo Ecológico de plagas. CEDAR: La Habana. Cuba. 2004. 296 pp.
20. Rodríguez, G. y E. J. Flores. (2011). Caracterización morfológica de Hongos endófitos asociados a cacao nativo y su capacidad antagónica para el control de *Moniliophthora perniciosa*. Tesis de ingeniero Agrónomo. Escuela Académico – Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM – T. 74p.
21. Rojas, C. y E. J. Flores. (2012). Efecto de tres dosis de humus y roca fosfórica en tres densidades de siembra, en repollo (*Brassica oleracea* L.). Tesis de Ingeniero Agrónomo. Escuela Académico - Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM-T. San Martín, Perú. 63 p.
22. Samuels, G. J. (2004). *Trichoderma* a guide to identification and biology. United States Dept. of Agriculture - Agricultural Research Service Systematic Botany and Mycology Lab. Beltsville, MD 20705 U.S.A. 40 p.
23. Sandoval, R. y E. J. Flores. (2012). Identificación de enfermedades fungosas en semillas de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y su control *in vitro*. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Escuela Académico - Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM - T. San Martín, Perú. 78 p.
24. Sandoval, R. M. (2012). Respuesta a la aplicación de cinco dosis de Roca Fosfórica y Humus en el cultivo de Repollo (*Brassica oleracea* L. var. *Capitata*) en suelos ácidos del Fundo Aucaloma de la UNSM – LAMAS. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Escuela Académico - Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM-T. 78 p.
25. Silva, I. y Peláez, J. (2013). Control de enfermedades Brócoli (*Brassica oleracea*) Bajo las Condiciones Agroecológicas de Lamas. Tesis de Ingeniero

Agrónomo. Escuela Académico - Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM - T. 76p.

26. Trigozo, E. y E. J. Flores. (2012). Influencia de *Trichoderma* spp endófito sobre el crecimiento e inducción de resistencia al estrés hídrico en cacao (*Theobroma cacao* L.). 124p.
27. Vidal, J. y E. Flores, (2006). Efecto de humus en el crecimiento desarrollo de plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) Tesis de Ingeniero Agrónomo. Escuela Académico - Profesional de Agronomía Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM - T. 77p.
28. Villegas, M. A. (2005). *Trichoderma* Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Orius Biotecnología. Colombia. Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com>.
29. Watanabe, T. (2002). Pictorial Atlas of soil and Seed Fungi, "Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species", Second Edition. USA. CRC Press LIC. 486 p.
30. Zavaleta - Mejía, E., R.I. Rojas, M. y M. Zavaleta M. (2000). Effect of volatiles emanated from brassicaceous (cruciferous) residues on some soil-borne pathogens. Pp - 118-123. In: Report on the Workshop on Chemical interactions Between Organisms, Santiago, Chile. International Foundation for Science - IFS, Stockholm, Sweden.

LINKOGRAFÍA VISITADAS

1. www.genomeportal.jgi-psf.org
2. www.uc.cl/sw_educ/hort0498
3. www.indexfungorum.org

X. RESUMEN

En el Fundo Aocaloma de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, a nivel de campo experimental, el año 2011 y a inicio del año 2012, se ha presentado la mancha negra de la col, que disminuyó el rendimiento y calidad, con el objetivo de obtener el control biológico, aislamos y aplicamos 6 cepas nativas del hongo *Trichoderma* spp, de la zona del Bajo Mayo en el laboratorio de Sanidad Vegetal - Fitopatología, ubicado en la Ciudad Universitaria en el distrito de Morales y experimento en el Fundo Aocaloma ubicado a 15 km del distrito de Morales, Latitud Sur 6° 20', Longitud Oeste 76° 21', altitud 720 m.s.n.m.m., zona de vida bosque húmedo tropical (bh-PT) del distrito de San Antonio Cumbaza, provincia y región de San Martín; bajo el Diseño de Bloques Completamente al Azar con 8 tratamientos y 3 bloques, se evaluaron las características de las cepas (morfotipos) de *Trichoderma* sp; asimismo se evaluamos la longitud, diámetro y peso de las cabezas de la col a la cosecha y el Análisis Económico. Logramos aislar y multiplicar 6 cepas de *Trichoderma*, CSH, CAH, CA1, CCU, CMA y CA3; de estos con la CA3, se obtuvieron cabezas con longitud 23,2 cm, circunferencia 44,533 cm, peso 652 g; peso de hojas verdaderas 403,33 g y rendimiento de 27 329,88 kg/ha. La menor incidencia con las CCU y CA1 con 68 y 73,33 %. Las 6 cepas de *Trichoderma* registraron menor área foliar afectada entre 7,19% a 10,75 %. Según la relación Costo/Beneficio y Beneficio/Costo la mayor ganancia se tuvo con el Tratamiento T6 (CA3) y T5 (CMA).

Palabras claves: *Trichoderma*, incidencia, área foliar afectada, cepas nativas, control biológico.

XI. SUMMARY

In Aucaloma's Fundo of the San Martin National University - Tarapoto, in the level experimental field in the year 2011 and beginning of 2012, it's presented the black spot of cabbage, which decreased the yield and quality, with the aim of obtain biological control, isolate and apply six native strains of the fungus *Trichoderma* spp, of the Bajo Mayo in the laboratory of Plant Health - Plant Pathology, located in the University City of Morales' district and experiment in Aucaloma's Fundo located 15 km of Morales' district, Latitude South 6 ° 20 ', West Longitude 76 ° 21', altitude 720 meters above sea level, area of tropical moist forest life (bh -PT) of San Antonio Cumbaza's district, province and region of San Martin; under Block Design Complete Randomized with 8 treatments and 3 blocks, strain characteristics (morphs) of *Trichoderma* sp were evaluated, also the length, diameter and weight of cabbage heads at harvest and Economic Analysis will evaluate. We managed to isolate and multiply 6 strains of *Trichoderma*, CSH, CAH, CA1, CCU, CMA and CA3, CA3 with these heads were obtained with 23,2 cm length, circumference 44,533 cm, weight 652 g, weight of true leaves 403,33 g, yield 27 329,88 kg/ha. The lower incidence with CCU and CA1 with 68 and 73, 33 %. The 6 strains of *Trichoderma* recorded lower leaf area affected between 7,19 % to 10,75 %. According to the Cost / Benefit and Benefit / Cost had the largest gain with T6 (CA3) and T5 (CMA) Treatment.

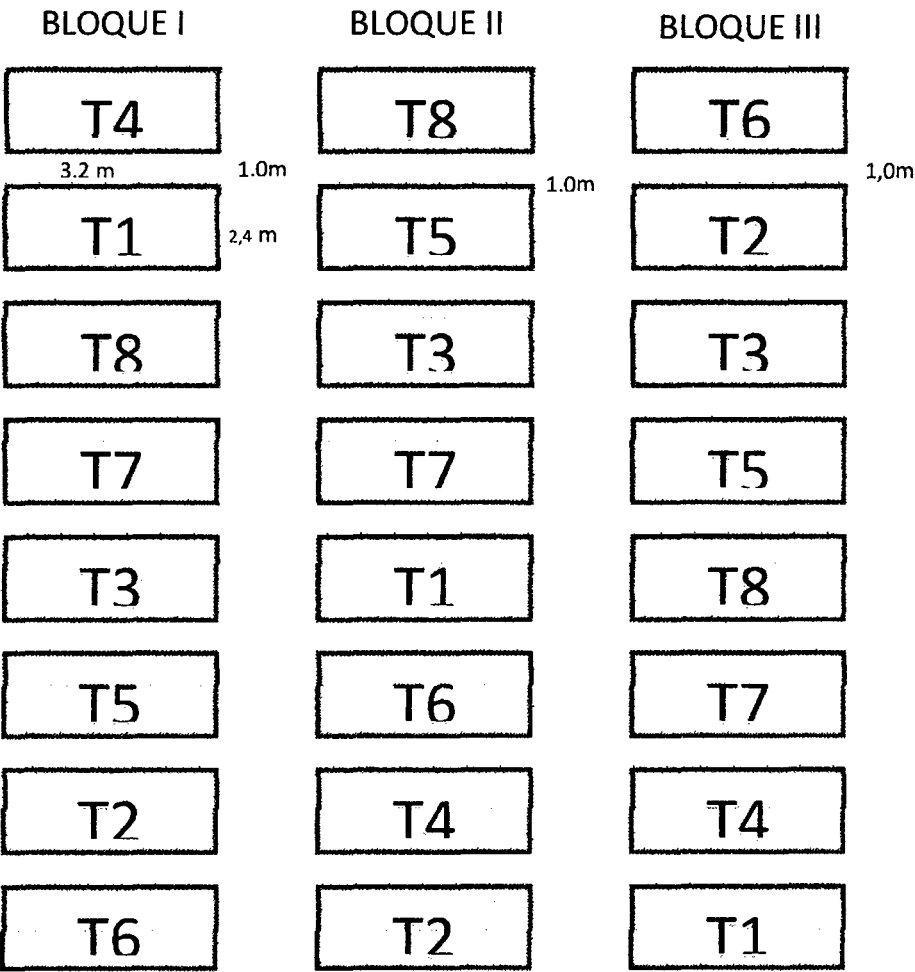
Keywords: *Trichoderma*, incidence, leaf area affected, native strains, biological control.

ANEXOS

ANEXO 1: Costo de producción por hectárea para todos los tratamientos.

			T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8	
Actividades	Unidad	Precio unitario	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal	Cantidad	subtotal
MANO DE OBRA																		
limpieza de campo	Jornal	25.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00
siembra y cuidado del almálico	Jornal	25.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00
transplante	Jornal	25.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00
control de malezas	Jornal	25.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00	20	500.00
aporque	Jornal	25.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00	10	250.00
cosecha	Jornal	25.00	22	550.00	21	525.00	21	525.00	20	500.00	22	550.00	27	675.00	19	475.00	21	525.00
estiva	Tn	10.00	22	220.00	21	210.00	21	210.00	20	200.00	22	220.00	27	270.00	19	190.00	21	210.00
fertilización	Jornal	10.00	10	100.00	10	100.00	10	100.00	10	100.00	10	100.00	10	100.00	10	100.00	10	100.00
manejo fitosanitario	Jornal	25.00	6	150.00	6	150.00	6	150.00	6	150.00	6	150.00	6	150.00	6	150.00	6	150.00
INSUMOS																0.00		0.00
Trichoderma sp	kg	5.00	3	15.00	3	15.00	3	15.00	3	15.00	3	15.00	3	15.00	0	0.00	0	0.00
Fungicidas																0.00		0.00
Mancoseb	kg	25.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	1	25.00	0	0.00
Fungo king	kg	100.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	1	100.00	0	0.00
Humus	tn	500.00	5	2500.00	5	2500.00	5	2500.00	5	2500.00	5	2500.00	5	2500.00	5	2500.00	5	2500.00
Roca fosfórica	tn	700.00	0.6	420.00	0.6	420.00	0.6	420.00	0.6	420.00	0.6	420.00	0.6	420.00	0.6	420.00	0.6	420.00
Saco	unidad	2.00	300	600.00	300	600.00	300	600.00	300	600.00	300	600.00	300	600.00	300	600.00	300	600.00
Rafia	kg	1.00	10	10.00	10	10.00	10	10.00	10	10.00	10	10.00	10	10.00	10	10.00	10	10.00
Adherente	litro	40.00	1	40.00	1	40.00	1	40.00	1	40.00	1	40.00	1	40.00	1	40.00	1	40.00
Cloruro de potasia	saco	118.00	2	236.00	2	236.00	2	236.00	2	236.00	2	236.00	2	236.00	2	236.00	2	236.00
Fertilizante foliar (Quimifol)	litro	40.00	3	120.00	3	120.00	3	120.00	3	120.00	3	120.00	3	120.00	3	120.00	3	120.00
Semilla de col	kg	150.00	0.5	75.00	0.5	75.00	0.5	75.00	0.5	75.00	0.5	75.00	0.5	75.00	0.5	75.00	0.5	75.00
Homai	kg	160.00	0.5	80.00	0.5	80.00	0.5	80.00	0.5	80.00	0.5	80.00	0.5	80.00	0.5	80.00	0.5	80.00
Tífon	kg	8.00	4	32.00	4	32.00	4	32.00	4	32.00	4	32.00	4	32.00	4	32.00	4	32.00
Cordel	m	0.30	200	60.00	200	60.00	200	60.00	200	60.00	200	60.00	200	60.00	200	60.00	200	60.00
Cascarilla de arroz	saco	2.00	10	20.00	10	20.00	10	20.00	10	20.00	10	20.00	10	20.00	10	20.00	10	20.00
Pulverizador	HM	1.00	48	48.00	48	48.00	48	48.00	48	48.00	48	48.00	48	48.00	48	48.00	48	48.00
Transporte de insumos	tn	6.00	10	60.00	10	60.00	10	60.00	10	60.00	10	60.00	10	60.00	10	60.00	10	60.00
Transporte producción	tn	5.00	22	110.00	21	105.00	21	105.00	20	100.00	22	110.00	27	135.00	19	95.00	21	105.00
				7446.00		7406.00		7406.00		7366.00		7446.00		7646.00		7436.00		7391.00

ANEXO 2: Croquis del campo experimental



4

1. *Chlorophyll a* (Chl *a*)

Caps

◆ 1997.10.22
11月10日 火曜日

ANEXO 4: Resultado de análisis físico y químico del suelo

Determinación	Resultado	Método	Interpretación
Análisis Físico	-----	-----	-----
Arena (%)	76,00	-----	-----
Limo (%)	7,40		
Arcilla (%)	16,60		
Clase Textural	Fra-Are	Hidrómetro	Franco Arenoso
Análisis Químico	-----	-----	-----
pH	5,73	Potenciómetro	Medianamente ácido
C.E mmhos/cm ³	77,84	Conductímetro	No salino
CaCO ₃ (%)	0,00	Gaso- Volumétrico	-----
Materia orgánica (%)	4,67	Walkley y Black	Alto
Nitrógeno (%)	0,23	-----	Media
Nitrógeno (kg/ha)		Cálculo M.O	Bajo
Fósforo P (ppm)	11,00	Olsen Modificado	Media
Potasio K (ppm)	65,8	Espect. Absorción atómica	Bajo
CIC	8,613	-----	Bajo
Ca ²⁺ meq/100	5,2	Espect. Absorción atómica	Bajo
Mg ²⁺ meq/100	2,8	Espect. Absorción atómica	Normal
K ⁺ meq/100	0,17	-----	Bajo
Ca+Mg intercambiable (meq/100g de suelo)	8,0	Espect. Absorción atómica	Bajo
Al ³⁺ + H ⁺ intercambiable (meq/100g de suelo)	0,40	Extractor. Kcl 1N	-----
Suma de Bases	8,18	-----	-----
Relación C/N	11,60	-----	-----
Fuente: Laboratorio de suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM – T 2012			

El suelo fue franco arenoso, moderadamente ácido, no salino; con concentración media de nitrógeno y fósforo, bajo: potasio, CIC, Ca++, Mg++, K+, Ca+Mg y Al³⁺+H⁺ sin problemas. El alto contenido de materia orgánica tiene más carbón que nitrógeno por ser procedente de materia orgánica de *Pteridium* sp. (Shapumba) e *Imperata* sp. (Cashaucsha).